

ENITA de Clermont-Ferrand
Mémoire de fin d'études d'ingénieur

**EMISSIONS D'AZOTE SOUS FORME GAZEUSE APRES
EPANDAGE DE LISIER DE PORC SUR UN SOL
ANDIQUE DE L'ILE DE LA REUNION**

Aurélien VELLE

Option Agronomie et Production Végétale

Mémoire soutenu le 25/09/2007





VELLE Aurélien, 2007, Emissions d'azote sous forme gazeuse après épandage de lisier de porc sur un sol andique de l'île de la Réunion, 50 pages, mémoire de fin d'études, Ile de la Réunion.

STRUCTURE D'ACCUEIL ET INSTITUTIONS ASSOCIEES:

- ♦ Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

ENCADRANTS :

- ♦ Maîtres de stage : OLIVER Robert et SAINT MACARY Hervé (CIRAD)
- ♦ Tuteur pédagogique : ALVAREZ Gaël et VASSAL Nathalie

OPTION : Agronomie et Production Végétale

RESUMÉ

Afin de compléter les différentes recherches menées à l'île de la Réunion sur les risques environnementaux en lien avec la gestion de l'azote au niveau agricole, une étude portant sur l'impact de l'épandage de lisier de porc sur les émissions gazeuses d'azote sur un sol andique a été conduite.

Dans le cadre de cette étude, trois expérimentations ont été mises en place. La première a porté sur la quantification au champ des émissions d'ammoniac et d'oxyde nitreux après épandage de lisier de porc grâce à un dispositif de type cloches fermées. Les deux autres expérimentations réalisées en laboratoire ont concerné l'étude de la relation entre la dynamique de dénitrification et le taux de remplissage des pores en eau d'échantillons de sol ayant reçu régulièrement des apports de lisier ainsi que la mesure des activités dénitrifiantes potentielles et réelles d'échantillons de sol ayant reçu ou non des apports de lisier.

L'expérimentation au champ n'a pas mis en évidence de pertes importantes sous forme gazeuse du fait d'une part des caractéristiques du lisier apporté et d'autre part de conditions dans le sol probablement défavorables à la production d'oxyde nitreux au cours de la dénitrification.

En revanche, les résultats obtenus en laboratoire montrent que les émissions d'oxyde nitreux par ce type de sol peuvent être potentiellement importantes après épandage de lisier (WFPS>60%) d'autant plus en cas d'apports répétés d'une année sur l'autre et soulignent l'intérêt d'un suivi à plus long terme des émissions au champ couplé à l'utilisation d'un modèle d'émission d'oxyde nitreux.

Mots clés : sol andique, ammoniac, oxyde nitreux, lisier de porc, dénitrification, WFPS

ABSTRACT

In order to supplement the various research carried out at Reunion island on the environmental risks linked to the management of nitrogen, a study was led about the impact of the spreading of liquid manure of pig on the gas nitrogen emissions on a andic soil.

Three experiments were carried out. The first one in order to quantify nitrous oxide and ammonia emissions using closed-chamber. The two others carried out in laboratory in order to study the relation between the dynamics of denitrification and the water filled pore space (WFPS) as well as the measurement of the potential and real denitrifying activities.

The first experiment did not highlight important losses due to the characteristics of the liquid manure used and probably to unfavourable conditions on the soil for the production of nitrous oxide during denitrification.

On the other hand, the results obtained in laboratory show that the nitrous oxide emissions by this soil could be potentially important after spreading of liquid manure (at WFPS>60%) all the more in case of repeated spreadings and underline the interest of a longer-term follow-up of the emissions on the field coupled with the use of a model of nitrous oxide emission.

L'ENITA Clermont-Ferrand n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans ce rapport ; ces opinions doivent être considérées comme propres à leur auteur.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier avant tout Hervé Saint Macary et Robert Oliver pour la confiance qu'ils m'ont témoigné et le soutien aussi bien logistique que scientifique qu'ils m'ont apporté.

Un grand merci aussi à Olivier Salmacis, Aristhènes Tibère et Jean-Fabien Mayen membres du personnel du CIRAD affecté à la station des Colimaçons pour leur participation active à la conduite des travaux effectués sur la station.

Merci également aux techniciens de laboratoire pour leur amabilité et leur mobilisation :

Jocelyn Idmon et Patrick Légier pour la Réunion, Jean Luc Marger et Claire Chevassus pour Montpellier.

Merci à tous mes collègues de la Réunion qui m'ont prêté main forte dans cette aventure, particulièrement à Christophe Poser, Frédéric Feder, Frédéric Chiroleu, Didier Baret, Géraud Moussard et Lilian Gauvin ainsi qu'à Bernard Siegmund qui m'a soutenu dès le départ dans mon projet de formation.

Enfin, je dédie ce mémoire à ma compagne Julie et à mes deux enfants, Lou et Zoé, qui m'ont accompagné et encouragé tout au long de ma formation.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	4
I- CONTEXTE DE L'ETUDE.....	6
1.1 PRESENTATION DE L'ILE DE LA REUNION	6
1.1.1 Situation géographique	6
1.1.2 Climat.....	6
1.1.3 Géologie	7
1.1.4 Formations pédologiques	7
1.2 CARACTERISTIQUES DES ANDOSOLS DE LA REUNION	9
1.2.1 Généralités sur les andosols	9
1.2.2 Importance des andosols pour l'agriculture de l'île	9
1.2.3 Minéralisation dans le cas des Andosols de la Réunion	9
1.2.4 La volatilisation après épandage de lisier sur un andosol	10
1.2.5 Lixiviation des nitrates après épandage de lisier sur un sol andique	12
1.3 PRODUCTION ET EMISSION DE N ₂ O PAR LES SOLS	13
1.3.1 Les enjeux.....	13
1.3.2 Etude des processus concernés	13
1.3.3 Modélisation des flux de N ₂ O.....	17
II- MATERIEL ET METHODES	19
2.1 QUANTIFICATION AU CHAMP DES EMISSIONS DE N ₂ O ET NH ₃	19
2.1.1 Description du site de la station des Colimaçons	19
2.1.2 Choix de la parcelle d'essai.....	21
2.1.3 Méthode utilisée pour la mesure des émissions.....	21
2.1.4 Description du dispositif expérimental	23
2.2 RELATIONS ENTRE LE TAUX DE REMPLISSAGE DES PORES EN EAU (WFPS) ET LA DYNAMIQUE DE DENITRIFICATION	27
2.2.1 Principe.....	27
2.2.2 Mode opératoire.....	27
2.2.3 Echantillons de sols étudiés	28
2.3 MESURE DES ACTIVITES DENITRIFIANTES POTENTIELLES ET REELLES	28
2.3.1 Principe.....	28
2.3.2 Mode opératoire.....	28
2.3.3 Echantillons de sol étudiés.....	28
2.4 ANALYSE DES RESULTATS	29
III- RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	30
3.1 EMISSIONS DE N ₂ O ET NH ₃ SUR L'ESSAI TERRAIN	30
3.1.1 Conditions météorologiques au cours de l'expérimentation.....	30
3.1.2 Evolution de l'humidité du sol	30
3.1.3 Caractéristiques du lisier apporté	32
3.1.4 Bilan de l'azote minéral du sol	32
3.1.5 Emissions de NH ₃	35
3.1.6 Emissions de N ₂ O.....	36
3.1.7 Emissions de CO ₂	37
3.2 RELATIONS ENTRE LE TAUX DE REMPLISSAGE DES PORES EN EAU (WFPS) ET LA DYNAMIQUE DE DENITRIFICATION	37
3.2.1 Flux de C-CO ₂	37
3.2.2 Flux de N-N ₂ O.....	38
3.2.3 Relation entre flux de N ₂ O et WFPS au laboratoire	38
3.2.4 Bilan de l'azote minéral selon l'humidité lors de l'incubation.....	39
3.3 MESURE DES ACTIVITES DENITRIFIANTES POTENTIELLES ET REELLES	40
CONCLUSION.....	41
BIBLIOGRAPHIE	42

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principales caractéristiques des lisiers de porc	24
Tableau 2 : Teneur en eau gravimétrique mesurée en fin d'expérience.....	27
Tableau 3 : Principales caractéristiques du lisier apporté	32
Tableau 4 : Evolution de la quantité d'azote minéral dans les horizons de surface.....	33
Tableau 5 : Carbone total et azote organique présents dans le sol	33
Tableau 6 : Evolution de la quantité d' N-NH_4 et N-NO_3 dans les différents horizons du sol..	34

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Carte de l'Océan Indien	6
Figure 2 : Pluviométrie de l'île de la Réunion	7
Figure 3 : Le cycle de l'azote en agriculture.....	14
Figure 4 : Equation bilan de la nitrification	15
Figure 5 : Les différentes étapes de la dénitrification	16
Figure 6 : Processus de production et consommation de NO et N_2O	17
Figure 7 : localisation du site des Colimaçons	19
Figure 8 : Plan de la station des Colimaçons (Essai « émissions gazeuses » en rose).....	20
Figure 9 : Pluviométrie et température moyennes mensuelles.....	21
Figure 10 : Photos des cloches à N_2O et NH_3 et du dispositif expérimental.....	22
Figure 11 : Plan du dispositif expérimental	24
Figure 12 : Implantation des sondes dans les fosses	26
Figure 13 : Température et pluviométrie au cours de l'essai	30
Figure 16 : Evolution de la teneur en azote minéral dans le sol.....	32
Figure 17 : Evolution des émissions de NH_3 au cours du temps.....	35
Figure 18 : Flux de $\text{N-N}_2\text{O}$ mesurés au cours de l'expérimentation	36
Figure 19 : Flux de C-CO_2 mesurés au cours de l'expérimentation.....	37
Figure 20 : Flux de C-CO_2 mesurés au cours de l'incubation.....	37
Figure 21 : Flux de $\text{N-N}_2\text{O}$ mesurés au cours de l'incubation	38
Figure 22 : Relation entre flux moyen de $\text{N-N}_2\text{O}$ et WFPS entre 0 et 1 jour.....	39
Figure 23 : Flux journalier de $\text{N-N}_2\text{O}$ par horizons étudiés et pour chaque traitement	40

Introduction

La gestion de l'azote à l'échelle de l'écosystème cultivé est une préoccupation majeure depuis de nombreuses années du fait des risques potentiels encourus pour l'environnement et la santé publique.

En effet qu'il s'agisse de la pollution des eaux par les nitrates ou de l'air par l'ammoniac et l'oxyde nitreux entres autres, cet élément dont l'importance agronomique n'est plus à démontrer, fait l'objet de nombreuses études de par le monde.

D'un point de vue général, il s'agit de concilier impératifs de production et limitation des effets néfastes liés à l'utilisation de produits contenant de l'azote, qu'ils soient minéraux ou organiques.

De nombreux facteurs influencent le devenir de l'azote apporté au champ. Les principaux sont la composition du produit apporté (quantité et qualité de l'azote), les conditions pédoclimatiques qui conditionnent le fonctionnement des différents processus intervenant sur le cycle de l'azote et enfin les modalités d'apport des produits utilisés.

A la Réunion, l'unité Risques et Recyclage du CIRAD, consacre de nombreux travaux à la gestion des effluents d'élevage qui pose de sérieux problèmes du fait des volumes concernés et des particularités d'un milieu insulaire volcanique tropical (pente, sol, pluviosité). Parmi ces effluents, les lisiers représentent les plus forts volumes et ont donc été particulièrement étudié, notamment pour ce qui concerne les pertes d'azote par lixiviation et par volatilisation.

La lixiviation, a surtout été étudiée dans le cas des sols andiques qui représentent la majeure partie de la surface agricole de l'île.

Les bilans azotés réalisés au cours de ces études font, comme nous le verrons lors de la revue des acquis de connaissances, dans certains cas état de déficits importants qui ne peuvent pas être imputables aux puits d'azote habituels du système (lixiviation et prélèvement par les plantes).

La présente étude vise à compléter ces différents travaux en s'intéressant également aux pertes gazeuses d'azote sous forme d'oxyde nitreux (N_2O) qui est un puissant gaz à effet de serre dont la production fait principalement intervenir les processus de dénitrification et de nitrification, processus peu étudié jusqu'ici sur l'île.

Pour cela, nous avons mis en place trois expérimentations différentes répondant chacune à un objectif particulier. La première a consisté à quantifier sur le terrain les pertes gazeuses d'azote après épandage de lisier porcin sur sol andique (Station des Colimaçons), pertes mesurées au champ grâce à un dispositif utilisant des cloches fermées. Cette première étude sur le terrain a aussi pour objectif de tester la « qualité » de la chaîne analytique pour la détermination de la composition d'échantillons gazeux qui associe des prélèvements réalisés à la Réunion et des analyses effectuées en métropole.

Les deux autres expérimentations ont été menées en laboratoire, avec pour but de déterminer deux des caractéristiques spécifiques du sol étudié vis-à-vis des processus concernés : (i) la détermination de l'activité enzymatique dénitrifiante en conditions de substrat et d'énergie non limitantes comme indicateur de la capacité des échantillons testés à assurer la fonction de dénitrification et (ii) la détermination de la capacité de production de N_2O en conditions de substrat ammoniacal non limitant selon les conditions d'humidité lors d'une incubation standardisée.

Ces deux paramètres doivent permettre de mieux comprendre les résultats obtenus au cours de l'expérimentation au champ et donner des éléments pour paramétrer la modélisation des quantités d'azote dénitrifiés pour les sols andiques de la Réunion.

I- Contexte de l'étude

1.1 Présentation de l'île de la Réunion

1.1.1 Situation géographique

L'île de la Réunion est un département français d'Outre-Mer qui se situe dans l'Océan Indien par 21° 07 de latitude Sud et 55° de longitude Est, soit à 800 km à l'Est de Madagascar (Figure 1).

Il s'agit d'une île volcanique qui présente une forme elliptique avec un grand axe NordOuest-SudEst de 72 Km (45 Km pour le petit axe) pour une superficie totale de 2512 Km². La population dépasse actuellement les 750 000 habitants et devrait atteindre le million d'habitant d'ici 2020. Celle-ci se concentre principalement sur la côte alors que les terres agricoles se situent plutôt en altitude à mi pente. Le centre de l'île qui comprend les plus hauts sommets est principalement occupé par des zones naturelles protégées.



Figure 1 : Carte de l'Océan Indien

1.1.2 Climat

Du fait de sa localisation, l'île de la Réunion est sous l'influence d'un climat tropical humide à deux saisons, avec un été chaud et humide de novembre à avril et un hiver relativement sec et frais de mai à octobre, saison privilégiée pour les cultures légumières.

C'est au cours de l'été que les cyclones tropicaux peuvent affecter l'île, ceux-ci étant principalement caractérisés par des vents violents (jusqu'à 300km/h) et des pluies diluviennes. Par contre tout au long de l'année, l'île est soumise aux régimes des alizés de sud-est qui sont à l'origine du contraste entre la côte Est exposée au vent et très humide (jusqu'à 10 m de pluie annuellement par endroit) et la côte Ouest, sous le vent, beaucoup plus sèche (Figure 2).

Les températures varient en étroite relation avec l'altitude (-0.7°C/100m), avec une température annuelle moyenne sur le littoral de 24°C contre 10°C sur les sommets. Entre l'été et l'hiver, l'écart de température est d'environ 5°C.

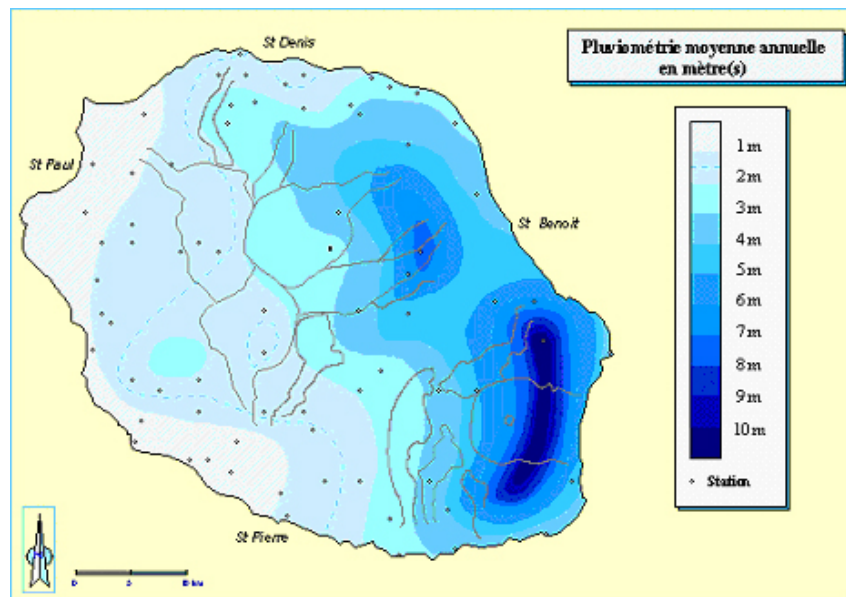


Figure 2 : Pluviométrie de l'île de la Réunion

1.1.3 Géologie

L'île de la Réunion est constituée d'un ensemble volcanique reposant à 4000m de profondeur sur le plancher océanique et dominé par le Piton des Neiges, qui culmine au centre de l'île à 3069m et dont l'activité s'est arrêtée il y a 12 000 ans. Au sud-est de l'île se trouve par contre un volcan toujours très actif, le Piton de la Fournaise (2631m).

Ces deux volcans effusifs, ont donné naissance à un relief en forme de cône par empilement de couches successives de roches basaltiques et de dépôts de matériaux pyroclastiques liés aux quelques épisodes explosifs ayant jalonné l'histoire géologique de l'île.

Ce relief de départ a été sculpté par le temps et les intempéries pour donner naissance à des formations spectaculaires qui font en grande partie l'attrait touristique de l'île : ce sont les trois cirques du centre de l'île (Cilaos, Salazie et Mafate) et les nombreuses ravines qui sillonnent profondément le paysage du sommet des montagnes aux battants des laves, paysage en perpétuel évolution car soumis à une intense érosion.

1.1.4 Formations pédologiques

La couverture pédologique de l'île montre une grande diversité liée à la combinaison de l'influence de la nature des roches et des conditions climatiques auxquelles elles sont soumises.

Les principaux types de sols présents à la Réunion sont les sols ferrallitiques, les sols bruns, les vertisols et les sols à caractère andique qui représentent à eux seuls 50% de la surface de l'île (RAUNET, 1991) et 80% de la surface agricole (SERVANT et RAUNET, 1988) dont les caractéristiques seront précisées plus loin (§ 1.2) La répartition entre ces divers types de sol est liée au gradient climatique et donc, à l'altitude.

1.1.5 L'agriculture réunionnaise

La surface agricole utilisée de l'île était d'un peu plus de 45 000 ha en 2000 (CESR, 2003) pour 9272 exploitations agricoles. Comme en métropole, le nombre d'exploitation est en baisse régulière notamment pour ce qui est des petites structures inférieures à 5 ha mais le secteur agricole doit faire face de plus à une pression foncière croissante due à l'augmentation de la population.

L'activité agricole de l'île se répartit en trois secteurs principaux qui sont la canne à sucre, la filière fruits et légumes et l'élevage. Ces trois secteurs représentent chacun environ un tiers de la richesse agricole de l'île. La filière canne-sucre représente à elle seule 50% des exportations de l'île et concerne la moitié de la surface agricole utilisée.

Les productions animales concernent principalement les filières porcine, bovine (bovin lait et bovin viande) et avicoles qui sont fortement structurées contrairement à la filière caprine.

Afin de rester concurrentiel face aux importations, l'accent a été mis sur l'intensification avec le développement de nombreux élevages hors sol, notamment dans les hauts de l'île, ce qui ne va pas sans poser de problèmes. En effet, l'augmentation régulière des volumes d'effluents associée aux contraintes naturelles (forte pente, pluviométrie saisonnière élevée), socio-économique (mitage, maintien de l'activité agricole) posent de nombreux problèmes réglementaires (respect de la Directive Nitrates) et environnementaux (qualité des eaux, gestion des épandages, connaissance de l'impact sur le milieu).

1.1.6 Gestion des effluents d'élevage à la Réunion

La valorisation agronomique des effluents organiques, voie qui a été privilégiée en France, est un problème complexe touchant aussi bien la valeur fertilisante ou amendante de ceux-ci, aux problèmes liés à la protection de la qualité de l'eau, de l'air et des sol, à celle de la santé, ainsi qu'aux facteurs socioéconomiques (pression du voisinage, distance production-épandage... (CHAUSSOD et al, 1997).

Cette problématique revêt une importance particulière pour l'île de la Réunion du fait d'une part de l'importance des volumes produits et d'autres parts des fortes contraintes locales.

En effet, la production de lisier a atteint les 730 000 tonnes de matières brutes en 2000 (soit plus de la moitié des effluents) dont 180 000 tonnes de lisier de porc (CHABALIER et al., 2006).

Or la valorisation de ces lisiers doit faire face à d'importantes contraintes naturelles (fortes pentes, pluviosité parfois importante), socio-économiques (mitage agricole, transports...) et réglementaires (Règlementation Sanitaire Départementale, Installations Classées pour la Protection de l'Environnement, respect des teneurs limites en ETM lors d'épandages sur des sols aux teneurs naturellement élevées..

Ainsi, de nombreuses recherches sont menées à la Réunion afin de mieux appréhender les risques environnementaux liés à la lixiviation des nitrates et à la volatilisation lors des épandages d'effluents d'élevage sur les différents types de sols de l'île. Une autre étude en cours et non détaillée dans ce document porte également sur les risques sanitaires liés aux éléments trace métalliques (DOELSCH, 2006).

Nous nous intéresserons ici principalement aux travaux menés sur les andosols, ceux-ci représentant la majeure partie des terres cultivables de l'île.

1.2 Caractéristiques des andosols de la Réunion

1.2.1 Généralités sur les andosols

D'après la FAO (1998), un horizon andique résulte de l'altération de dépôts essentiellement pyroclastiques pouvant aussi être associés à des matériaux non volcaniques. Les andosols présentent souvent un profil complexe du fait de la complexité et de la répétition des apports volcaniques pyroclastiques.

L'horizon de surface peut être très épais et présente une forte teneur en matière organique (supérieur à 5%). Ils sont caractérisés par une structure floconneuse faiblement cohérente de type continue, une densité apparente faible (inférieure à 0.9) et une très forte capacité de rétention en eau. Ainsi, la capacité au champ à $pF=3$ peut dépasser les 100% du poids du sol sec (à 105°C) voir atteindre les 300% (RAUNET, 1991). Le drainage interne est généralement bon du fait de la forte porosité de ces sols.

Certains andosols très hydratés présentent une thixotropie, c'est-à-dire qu'ils peuvent subir des transformations solide-gel réversibles sous l'action de pressions extérieures (VAN WAMBEKE, 1995). Par contre, une fois desséchés ils sont impossibles à réhydrater et sont alors très sensibles à l'érosion (MILLER *et al*, 1995).

Les andosols sont particulièrement fertiles s'ils sont bien utilisés (MILLER *et al*, 1995). Cette fertilité s'explique par la forte capacité d'échange de ces sols aussi bien anionique que cationique. La capacité d'échange anionique (CEA) des andosols est due à la nature des éléments fins qui les constituent. En effet, ceux-ci sont principalement des silicates d'alumine peu et mal cristallisés, appelés communément « imogolites » et « allophanes » (CHABALIER *et al*, 2006), qui présentent une grande surface spécifique et des groupes fonctionnels Al-OH-Al en surface. La présence de groupements hydroxyle dans les complexes organiques de ces sols participe également à la CEA. Cette CEA, qui dépend fortement du pH, confère à ces sols un comportement particulier vis-à-vis des mouvements de nitrates.

1.2.2 Importance des andosols pour l'agriculture de l'île

Alors qu'ils ne représentent que 1.1% des sols tropicaux pour 57 millions d'hectares (VAN WAMBEKE, 1995), les andosols sont d'une toute autre importance à la Réunion. Ainsi, ce type de sol concerne 57% des terres en canne à sucre, dont plus de 34% pour les andosols non perhydratés, de même que la quasi-totalité des terres en maraîchage et en arboriculture (CHABALIER *et al*, 2006).

1.2.3 Minéralisation dans le cas des Andosols de la Réunion

Les différentes études menées par MORVAN *et al* (2003) ont porté sur la minéralisation basale (minéralisation des matières organiques endogènes) et sur la minéralisation des matières organiques exogènes dans le but de distinguer le fonctionnement intrinsèque du sol par rapport à ce phénomène et son comportement vis-à-vis des produits organiques susceptibles d'être apportés.

- **Minéralisation basale**

Il ressort des études menées que les andosols, comme les autres sols étudiés à la Réunion, présentent une faible activité minéralisatrice basale (1.42 à 0.64 kg d’N/ha/jour à 28°C sur les 25 premiers centimètres) comparativement aux sols de milieux tempérés (MORVAN *et al*, 2003). Les vitesses de minéralisation sont fortement corrélées à la teneur en matière organique ($r^2 = 0.96$, $p = 0.001$) et à la minéralisation du carbone. Cela indique que la minéralisation de l’azote organique devrait augmenter avec l’augmentation de la teneur en MO, sans pour cela atteindre des valeurs très importantes.

Les raisons évoquées par les auteurs pour expliquer cette faible minéralisation basale sont l’acidité et les fortes teneurs en aluminium et éléments traces de ces sols qui entraîneraient du fait de leur toxicité une inhibition de l’activité microbienne (CHABALIER *et al*, 2003). De plus, les complexes organo-minéraux formés dans les andosols par combinaison de MO avec l’aluminium et les allophanes, offrent une grande résistance à la dégradation par l’eau et par les micro-organismes, entraînant une faible teneur en composé organique soluble et privant ainsi les micro-organismes d’une source importante d’azote et de carbone.

Ces différents points sont corroborés par les faibles valeurs de biomasse microbienne observées obtenu à partir de la part du carbone microbien par rapport au carbone total du sol. Les valeurs obtenues à la Réunion varient de 0.15 à 1% du Carbone total contre 1.5 à 2.5% dans les sols de climat tempéré.

- **Minéralisation des matières organiques exogènes**

Les andosols induisent une minéralisation rapide des matières organiques exogènes lors d’épandages (MORVAN *et al*, 2003). Par exemple, l’épandage de fumier de volailles est intense mais de courte durée (14 jours à 20°C) ce qui semble indiquer une dynamique de l’azote différente entre les sols de climats tempérés et de climat tropicaux. Il en est de même pour le taux de minéralisation du carbone des produits apportés qui affiche des valeurs supérieures à celles mesurées en sol tempérés (respectivement 10 à 20% contre 5 à 12%).

1.2.4 La volatilisation après épandage de lisier sur un andosol

La quantification des pertes gazeuses par volatilisation répond à un double objectif, agronomique et écologique.

L’ammoniac dont les émissions sont d’origine principalement agricole (80 % des émissions mondiales et 97% pour la France), induit des effets néfastes sur la santé humaine et animale au niveau des bâtiments d’élevage, mais aussi pose de sérieux problèmes de pollution à l’échelle régionale (PORTEJOIE *et al*, 2002). En effet, sa production par volatilisation et sa redéposition entraînent une eutrophisation et une acidification de nombreux milieux aussi bien terrestres qu’aquatiques (PIERZINSKY *et al*, 2000).

Cinquante pourcent des émissions de NH₃ seraient dues à l’utilisation d’engrais chimiques et d’effluents d’élevage pour la fertilisation et le pourcentage de pertes d’azote sous cette forme est plus important dans les pays tropicaux du fait de températures plus élevées. Ces pertes réduisent l’effet fertilisant des produits utilisés et induisent des nuisances olfactives. Ainsi 17% de l’azote apporté par les engrais chimiques seraient perdus dans ces régions contre 7% seulement dans les pays tempérés. Ces proportions sont respectivement de 21% et 17% pour les effluents d’élevage (BOUWMAN *et al*, 2002).

Il convient donc de connaître les facteurs qui ont une influence sur le processus de volatilisation et vérifier l’impact des pratiques culturales sur ceux-ci.

Facteurs proximaux :

- le pH du sol, les pH acides diminuant les pertes (FERGUSON *et al*, 1984)
- la température et l'humidité du sol, les fortes températures et une humidité en diminution favorisant la volatilisation (CLAY *et al*, 1990).
- L'augmentation de la vitesse du vent à la surface du sol favorise les pertes
- La teneur du sol en ammonium.
- La structure du sol en surface

Facteurs distaux :

- Le type de produits fertilisants et la forme de l'azote apporté, des apports d'azote facilement hydrolysable (urée) dans des circonstances favorables au développement de la microflore (sol humide, températures élevées, enfouissement superficiel) favorisant les pertes (DAVET, 1996)
- Le travail et la couverture du sol
- le mode d'épandage, l'injection profonde réduisant considérablement les pertes (THOMPSON *et al*, 1987 ; MATTILA, 1998)
- La pluviométrie et l'irrigation, une pluie après épandage réduisant la quantité de NH_3 volatilisée

La volatilisation affecte une proportion variable et souvent importante (3 à 85% en milieu tempéré) de l'azote apporté lors d'épandages d'effluents organiques, la majorité des pertes (90%) ayant lieu dans les cinq jours suivant l'apport.

Des expériences successives d'épandages peuvent conduire à des résultats apparemment contradictoires. A la Réunion, MORVAN *et al* (2003) ont montré l'absence d'effet d'un mulch de canne par rapport au sol nu sur les pertes par volatilisation après épandage de lisier de porc, alors que GENERMONT *et al* (2003) ont montré une différence notable entre sol nu et mulch de canne à sucre. Cette différence entre deux expériences effectuées sur le même type de sol s'explique principalement par les caractéristiques des lisiers utilisés, très liquide dans le premier cas (<1% de MS), donc s'infiltrant rapidement, et beaucoup plus pâteux dans le second (jusqu'à 10% de MS), donc piégé dans le mulch est exposé plus fortement à la volatilisation. Cela confirme bien l'augmentation des pertes par volatilisation avec l'augmentation de la teneur en matière sèche (MS) du lisier (MORVAN *et al*, 1997).

Dans une autre expérience sur un Andosol des hauts de l'île (1500 m) les pertes par volatilisation après épandage de lisier de porc sur couvert prairial se sont élevées à 39% de l'azote ammoniacal apporté (dont 91% les deux premiers jours) contre 100% et 47% de perte dans les bas respectivement sur mulch de canne à sucre et sur sol nu (GENERMONT *et al*, 2002). Cette différence s'explique principalement par des conditions météorologiques et de couvertures du sol différentes d'un essai à l'autre. En effet, dans le premier cas l'étude a eu lieu au cours de l'hiver austral avec des températures plutôt basses (9.4°C en moyenne), des vents faibles (1.6m/s en moyenne) et un épisode pluvieux au troisième jour d'expérimentation ayant entraîné vers le sol le lisier retenu jusqu'alors sur le couvert végétal. Au contraire, l'expérimentation dans située dans les « bas de l'île » a eu lieu au printemps avec des températures plus chaudes (23°C en moyenne) et des vents soutenus (13m/s en moyenne).

Ces recherches confirment donc que le taux de perte par volatilisation dépend d'une part des caractéristiques intrinsèques des matières organiques utilisées (taux de matière sèche, teneur en azote ammoniacal), de la couverture du sol et des conditions météorologiques (pluviométrie, vent et températures). Par contre il est difficile de faire ressortir un effet spécifique lié aux caractéristiques des andosols, ce qui est normal puisque la volatilisation est

essentiellement un phénomène de surface, sauf en cas de travail du sol après épandage ou en cas d'injection profonde.

1.2.5 Lixiviation des nitrates après épandage de lisier sur un sol andique

La dégradation sensible de la qualité des eaux souterraines depuis plusieurs années en relation directe avec la croissance démographique (DDASS Réunion, 2004) a donc conduit les pouvoirs publics réunionnais à mener différentes actions et à diligenter des recherches afin de mieux comprendre les mécanismes en œuvre et pouvoir adapter au mieux les pratiques agricoles.

La question de la pollution des eaux souterraines par lixiviation des nitrates après épandage de lisier a donc fait l'objet de plusieurs études sur sols andiques aussi bien en laboratoire qu'en plein champ.

Il ressort de ces études que les sols andiques de la station des Colimaçons présentent un bon drainage ainsi qu'une importante capacité à adsorber les nitrates (PAYET, 2005 ; FEDER et FINDELING, 2007), ce qui se traduit par un retard des flux en profondeur (lixiviation) en cas d'apports massifs et répétés de lisiers (PAYET, 2005).

Lors de l'étude de PAYET, une parcelle a reçu sur une moitié deux apports de lisier par épandage à un an d'intervalle (fin octobre 2003 et fin octobre 2004), l'autre moitié n'ayant reçu aucun apport (témoin). Les quantités d'azote apportées ont été respectivement de 264 et 180 kg d'azote minéral par hectare. Chaque épandage a été suivi de la mise en place d'une culture de maïs. Les flux hydriques et de nitrates ont été suivies dans le sol et le sous sol.

Durant l'année qui a suivi le premier apport de lisier, moins de 3% de l'azote apporté (6 kg/ha) a été lixivié, malgré une pluviométrie et un drainage important, respectivement 780mm et 300mm. Par contre la deuxième année, 150 kg d'azote ont été lixiviés pour une pluviométrie et un drainage respectivement de 1120mm et 600mm.

De plus, l'auteur a mis en évidence un défaut au niveau du bilan azoté sous maïs. Il s'agit d'une diminution du stock d'azote nitrique en cours de culture constatée dans les 150 premiers centimètres. Ainsi en février 2004, une diminution de l'ordre de 60 kg d' N-NO_3 a eu lieu sur la parcelle traitée alors qu'en 2005 cette baisse a atteint les 165 kg d' N-NO_3 par hectare. Ces diminutions du stock d'azote nitrique dans le sol sont aussi constatées sur la parcelle témoin n'ayant reçu aucun apport de lisier. Ainsi, le stock a diminué de 100 kg d' N-NO_3 en janvier 2004 et 75 kg d' N-NO_3 en février 2005.

Enfin, ces diminutions ne peuvent s'expliquer uniquement par des prélèvements par le maïs, celui-ci n'étant pas en période de forte consommation, notamment en 2005, ni par la lixiviation, celle-ci ayant lieu principalement après la baisse du stock.

Cette diminution importante du stock d'azote nitrique du sol pourrait donc provenir de pertes par volatilisation ou dénitrification ou encore d'une immobilisation de l'azote dans le sol (réorganisation).

Or l'importance des quantités d'azote concernées et les processus mis en cause posent pour certains de graves questions environnementales. C'est le cas notamment de la dénitrification et de sa production associée de protoxyde d'azote, également appelé oxyde nitreux (N_2O), qui est un gaz fortement impliqué dans le phénomène de réchauffement climatique et qui n'a jamais fait l'objet d'étude à la Réunion.

Il convient donc de s'intéresser à ce gaz et aux différents processus responsables de sa production et de son émission vers l'atmosphère.

1.3 Production et émission de N₂O par les sols

1.3.1 Les enjeux

L'oxyde nitreux est un puissant gaz à effet de serre (GES) qui participe activement au forçage radiatif positif lié à l'action de l'homme (6% du forçage total des GES bien répartis dans l'atmosphère) du fait de sa durée de séjour dans l'atmosphère qui serait approximativement de 114 ans et de son Potentiel de Réchauffement Global 300 fois supérieur à celui du dioxyde de carbone (GIEC, 2001). Quarante et un pourcent des émissions seraient d'origine anthropique. De plus ce gaz participe également à la destruction de l'ozone stratosphérique et constitue donc un danger pour la préservation de la couche d'ozone (CICERONE, 1987).

Or au niveau mondial, les émissions de N₂O d'origine humaine proviendraient à 84% des activités agricoles et celles-ci devraient augmenter de 37% d'ici 2020 (USEPA, 2007).

En France, bien que les émissions d'origines agricoles soient en diminution depuis 1990 (-12%) suite à une réduction de la fertilisation azotée et du volume des déjections animales, la part relative de ce secteur est passée de 65% en 1990 à 76% en 2004 (CITEPA, 2006). Cependant, ces chiffres sont à prendre avec prudence car de nombreuses sources d'imprécision sont inhérentes au fonctionnement des modèles destinés à estimer ces émissions (RENAULT, 1999) : simplification des modèles, forte variabilité spatio-temporelle des émissions, complexité des processus.

En effet, les émissions de N₂O sont caractérisées par une forte variabilité aussi bien spatiale que saisonnière. La variabilité spatiale des émissions serait due à la présence de microsites de production où les conditions sont favorables à la production de N₂O et à la présence de voies préférentielles pour la diffusion des gaz (GIRARD et al, 2005). La variabilité temporelle serait liée à la dynamique de croissance des microorganismes responsables de la production de ce gaz et/ou au taux d'enzyme produits par ceux-ci (MULLER et al, 1997), le tout sous la dépendance des conditions du milieu, d'où l'intérêt de s'intéresser de près aux processus concernés et aux facteurs les influençant.

De plus, il semblerait que certaines pratiques agricoles puissent favoriser les émissions de N₂O comme le non travail du sol par exemple (GERMONT et TAUREAU, 1991), bien que cet effet soit variable en fonction du type de sol et de sa prédisposition naturelle à émettre ce gaz (CADRIN, 1997). Enfin, il est nécessaire de prendre en compte la globalité des flux de GES émis, une augmentation des émissions de N₂O pouvant être largement compensée par une augmentation du stockage du carbone (METAY, 2005).

On comprend dès lors la nécessité de mieux appréhender les processus complexes responsables de la production de ce gaz afin d'améliorer la fiabilité et la précision des données fournies par les modèles ainsi que pour réduire les émissions par l'adoption de pratiques adaptées au comportement de chaque type de sol.

1.3.2 Etude des processus concernés

La production de N₂O par les sols résulte principalement de deux processus microbiologiques, la nitrification et la dénitrification (WEBSTER et HOPKINS, 1996) qui interviennent dans le cycle de l'azote (Figure 3). La dénitrification est un processus plus variable dans le temps que la nitrification du fait de la multiplicité des facteurs qui interviennent sur sa régulation (KHALIL, 2003).

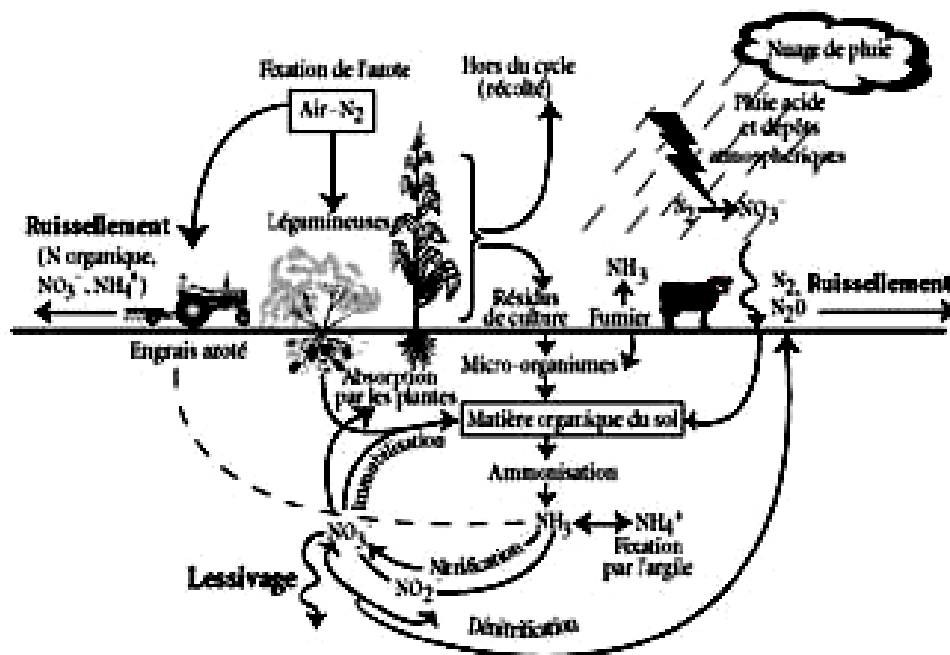


Figure 3 : Le cycle de l'azote en agriculture

La part relative de chacun de ces processus dans la production de N_2O peut varier en fonction du type de fertilisant apporté (MERINO *et al*, 2001) ou des conditions pédoclimatiques (SKIBA et SMITH, 2000).

De plus, une part du N_2O produit peut être consommée par les microorganismes nitrifiants et dénitrifiant, d'autant plus que la diffusion de celui-ci vers l'atmosphère est gênée par une mauvaise structure ou un engorgement temporaire par exemple (CHAPUIS-LARDY *et al*, 2006). Une concentration d'équilibre en N_2O à proximité immédiate des microorganismes dénitrifiant (de l'ordre de quelques ppm) régulerait la production et la consommation de celui-ci (KHALIL, 2003).

La structure du sol devrait donc avoir un effet sur les flux de N_2O , LAFOLIE *et al* (2001) ayant montré que la distribution de la taille des agrégats du sol pouvait influencer sur les émissions et que de petites variations de la conductivité hydraulique pouvait avoir des effets importants sur celles-ci. De même, il y aurait une interaction entre la taille des agrégats et leur état plus ou moins morcelé (DRURY *et al*, 2004).

Enfin, ces deux processus peuvent également conduire à l'émission d'oxyde nitrique (NO) qui est un gaz régulant la production d'ozone troposphérique (CRUTZEN, 1979) lui-même impliqué dans le réchauffement climatique.

1.1.2.1- Nitrification

La nitrification est une oxydation successive de l'ammonium en nitrite (nitritation) puis en nitrate (nitratisation). Ces oxydations se font principalement par des bactéries autotrophes aérobies strictes du genre *Nitrosomonas* pour la nitritation et *Nitrobacter* pour la nitratisation (WEBSTER et HOPKINS, 1996). Ces bactéries utilisent l'azote ammoniacal ou les nitrites comme source d'azote et comme source d'énergie (donneurs d'électrons) et le dioxyde de carbone ou les carbonates comme source de carbone.

Cependant, d'autres organismes sont capables de nitrification hétérotrophe, notamment des champignons (*Aspergillus flavus*), des bactéries et des actinomycètes qui se développent sur des substrats carbonés organiques. Cette nitrification favorisée par les faibles pH et les températures élevées est généralement moins active dans les sols cultivés que la nitrification autotrophe (FOWLER, 1989).

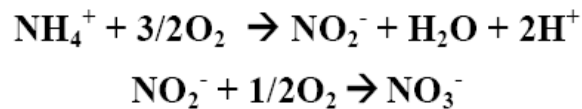


Figure 4 : Equation bilan de la nitrification

Les principaux facteurs affectant la nitrification sont (MONTAGNINI *et al*, 1989) :

- la population bactérienne nitrifiante
- la température
- l'humidité
- le pH
- les substrats NH_4^+ , O_2 et CO_2

Ainsi, les conditions de nitrification sont optimales à des températures comprises entre 25 et 35°C, à pH légèrement acide et en condition d'humidité du sol intermédiaire (BERTSCH, 1998). Pour ce qui est de la production de N_2O lors de la nitrification, celle-ci est favorisée en condition de fourniture limitée en oxygène (POTH et FOCHT, 1985 ; WRAGE *et al*, 2001).

Le taux de perte dépendrait donc de la pression partielle en oxygène, KHALIL ayant montré que la proportion de N_2O émis par unité d'azote nitrifié pouvait être multipliée par 7 (de 0.16 à 1.07%) quand la proportion de l'atmosphère du sol en O_2 passait de 20.5 à 1.4% (KHALIL, 2003).

1.1.2.2- Dénitrification

La dénitrification est une succession de réductions anaérobies du nitrate en nitrite, oxyde nitreux puis en azote moléculaire, réductions qui se font grâce à des enzymes réductases produites par des bactéries anaérobies facultatives qui transforment la matière organique (ROBERTSON et TIEDJE, 1987). Cependant, il a été montré que la dénitrification pouvait avoir lieu en condition aérobie, les bactéries utilisant les nitrates pour leur respiration étant capable également d'utiliser l'oxygène (BELL *et al*, 1990).

Une fois réduites, ces enzymes qui sont la NO_3^- réductase, la NO_2^- réductase et la N_2O réductase, transmettent leurs électrons à un accepteur final (protéine ou ion minéral) comme le NO_3^- par exemple (PELMONT, 1993).

Il existe un décalage temporel de quelques heures entre la synthèse de la N_2O réductase et celle des autres enzymes de dénitrification (FIRESTONE et TIEDJE, 1979). Ainsi, il a été montré dans certaines conditions que la NO_3^- réductase et la NO_2^- réductase seraient actives entre 3 et 6 heures après une période d'anoxie alors que la N_2O réductase le serait entre 16 et 33 heures (DENDOOVEN et ANDERSON, 1994).

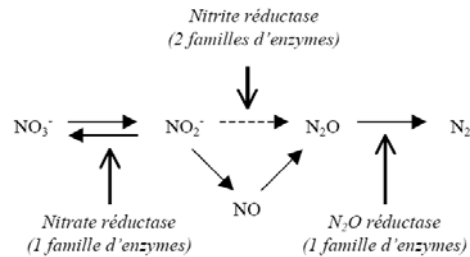


Figure 5 : Les différentes étapes de la dénitrification

Les bactéries responsables de la dénitrification sont très fréquentes dans le sol comme par exemple les *Pseudomonas* (GERMONT *et al*, 1999). A noter que certains champignons sont également capables de dénitrification (SCHOUN *et al*, 1992), de même que certaines bactéries hétérotrophes dites NO_3^- réducteurs qui sont capables de réaliser la première étape de la dénitrification (TIEDJE, 1988).

La quantification de la capacité maximale d'un sol à dénitrifier se fait par le potentiel de dénitrification déterminé en laboratoire et qui s'exprime en mg d'azote par kg de sol par heure (SIGUNDA, 2003).

La dénitrification est un processus pouvant être considéré comme un moyen naturel d'élimination des nitrates en excès (ELLIS *et al*, 1975). Il peut également conduire à la production de N_2O , même si seules certaines bactéries sont capables d'en produire au cours de ce processus. Ainsi, *Corynebacterium nephredii* produit du N_2O alors que *Thiobacillus denitrifians* n'en produit pas (DAVET, 1996). Bien que trois sources d'énergie soient utilisées par les différents organismes (organique, minérale et lumineuse), la source organique est la plus fréquemment utilisée.

Les pertes d'azote au cours de la dénitrification peuvent varier en fonction des conditions pédoclimatiques de quelques kilos à quelques dizaines de kilos d'azote par hectare et par an (HENAULT et GERMONT, 1995).

De très nombreux facteurs peuvent influencer la production de N_2O au cours de la dénitrification. Ces facteurs peuvent être classés en deux types, les facteurs proximaux et les facteurs distaux, ces derniers influençant plus ou moins directement les premiers (GERMONT *et al*, 1999).

Facteurs proximaux :

- La présence de microorganismes dénitrifiants
- le niveau d'anoxie du sol, l'oxygène inhibe notamment le fonctionnement et la synthèse de la N_2O réductase (KLEMEDTSON *et al*, 1988)
- la présence de nitrate se substituant à l'oxygène comme accepteur d'électron
- la disponibilité en substrat organique
- le pH du sol

Facteurs distaux :

- la pluviométrie et l'irrigation
- les apports de fertilisants azotés et de matières organiques
- le travail du sol

Ainsi un pH acide (KNOWLES, 1982), une aération importante et une forte disponibilité en nitrate seraient favorables à un taux élevé de production de N_2O lors de la dénitrification du fait d'une baisse de la capacité de la microflore à réduire N_2O en N_2 (HENAULT *et al*, 1998). Cependant, bien que le taux de production de N_2O au cours de la dénitrification, exprimé par

le rapport N_2O/N_2 , puisse augmenter dans certaines conditions, ces mêmes conditions peuvent être défavorables à l'activité de dénitrification dans son ensemble et inversement. Ainsi des pluies élevées, un faible drainage, une texture fine et un taux élevé de matière organique favoriseraient la dénitrification (SKIBA et SMITH, 2000) tout en réduisant le rapport N_2O/N_2 lors de celle-ci (conditions favorables à l'anaérobiose).

On voit donc que des conditions défavorables à la dénitrification et à sa production associée de N_2O peuvent être favorables à la nitrification et vice versa. Les pertes d'azote sous forme de N_2O devraient être maximale en condition microaérophile, la réduction du N_2O lors de la dénitrification étant inhibée par l'oxygène et les organismes nitrificateurs formant également du N_2O en condition suboptimale d'oxygène.

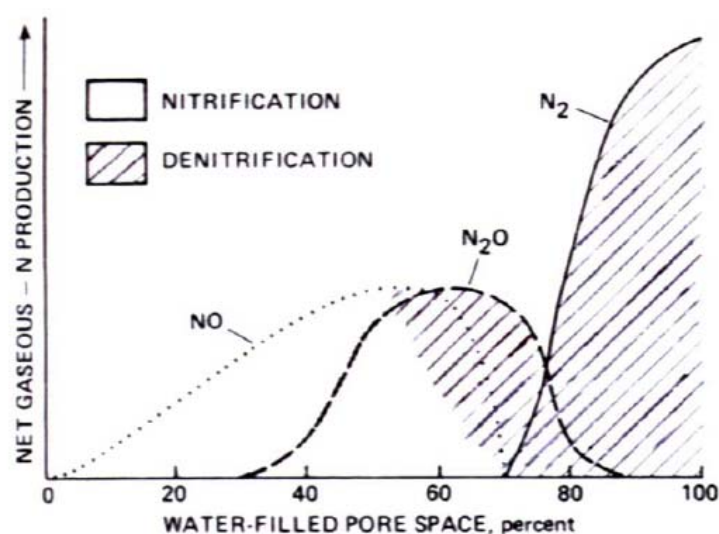


Figure 6 : Processus de production et consommation de NO et N_2O

1.3.3 Modélisation des flux de N_2O

La modélisation des flux de N_2O d'origine agricole s'inscrit dans le cadre de la lutte contre le réchauffement climatique avec pour objectifs principaux de pouvoir fournir des indications fiables concernant les émissions de ce gaz à l'échelle régionale en intégrant d'une part les différents facteurs de régulation intrinsèques aux sols ainsi que leurs variations et d'autres part l'impact des pratiques culturales.

Des modèles distincts ont tout d'abord été développés pour modéliser les phénomènes de dénitrification et de nitrification.

Les modèles de dénitrification sont généralement basés sur la cinétique Michaelis-Menten et intègrent différents paramètres. Ainsi, le modèle NEMIS développé par l'INRA prend en compte la disponibilité en carbone, la teneur en nitrate, le taux de saturation en eau et la température du sol (HENAULT et GERMONT, 2000). Le modèle NGAS intègre en plus la texture du sol (PARTON *et al*, 1996).

L'utilisation d'un indicateur expérimental permet d'évaluer la proportion d'azote émis sous forme de N_2O au cours de ce processus (HENAULT *et al*, 2001), alors que pour ce qui est de la participation de la nitrification aux émissions de N_2O , celle-ci est déterminée par une relation quantitative entre l'azote nitrifié et ces émissions (GARRIDO, HENAULT *et al*, 2002).

Plus récemment, l'INRA a développé un modèle (NOE) intégrant les deux processus de nitrification et dénitrification en relation avec le taux de saturation des pores en eau (WFPS) qui a été validé sur plusieurs jeux de données d'origines différentes (HENAULT *et al*, 2005). Ce modèle a ensuite été couplé au modèle de culture CERES, dont les données de sortie permettent d'alimenter quotidiennement le modèle NOE en données d'entrée (état hydrique du sol, disponibilité en azote minéral).

L'ensemble a donné lieu à des modélisations à l'échelle régionale grâce à un important travail de spatialisation et d'élaboration de bases de données portant sur les paramètres physico-chimiques (densité apparente...) et biologiques des sols ainsi que sur les pratiques de fertilisation. Ces travaux ont permis de montrer que le fonctionnement microbiologique et hydrique des sols doit être pris en compte dans les modèles d'évaluation des émissions, notamment dans la méthode standardisée utilisée par l'Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), ce afin d'aboutir à un diagnostic fiable et d'élaborer les stratégies les mieux à même de réduire ces émissions.

Les différentes recherches menées sur la modélisation des flux de N₂O en France ont permis de mettre en évidence entre autre l'importance de la structure du sol non pas sur la production de N₂O en elle-même mais sur les transferts de ce gaz vers l'atmosphère, donc sur l'intensité des émissions. Ces recherches ont également souligné la nécessité de prendre en compte les variations interannuelles des émissions qui dépendent essentiellement des conditions climatiques et culturelles.

II- Matériel et méthodes

Afin d'atteindre les objectifs fixés, nous avons mis en place une première expérimentation sur une des parcelles de la station des Colimaçons destinée à quantifier au champ les émissions de N_2O et NH_3 à l'aide d'un dispositif basé sur la méthode des cloches.

Cependant, les mesures de flux de N_2O réalisés sur le terrain ne peuvent être que ponctuelles. Or, afin d'estimer les pertes à l'échelle d'une période donnée et pour un type de sol, il est nécessaire d'intégrer les données à l'aide d'un modèle de prédiction des flux de N_2O (NOE = Nitrous Oxide Emission) en fonction des conditions pédo-climatiques (température et humidité du sol essentiellement) et de la dynamique de minéralisation de l'azote.

Deux autres expérimentations ont donc été réalisées en laboratoire afin d'acquérir certains paramètres liés à la production de N_2O et spécifiques au type de sol étudié. La première a pour but de déterminer la relation entre le taux de remplissage des pores en eau (WFPS : Water Filled Pore Space)) et la dynamique de dénitrification en condition de substrat ammoniacal non limitant, et l'autre de déterminer l'activité dénitrifiante sur des échantillons provenant de profils de sols andiques dans le cas de parcelles ayant fait l'objet ou non d'épandages de lisier.

2.1 Quantification au champ des émissions de N_2O et NH_3

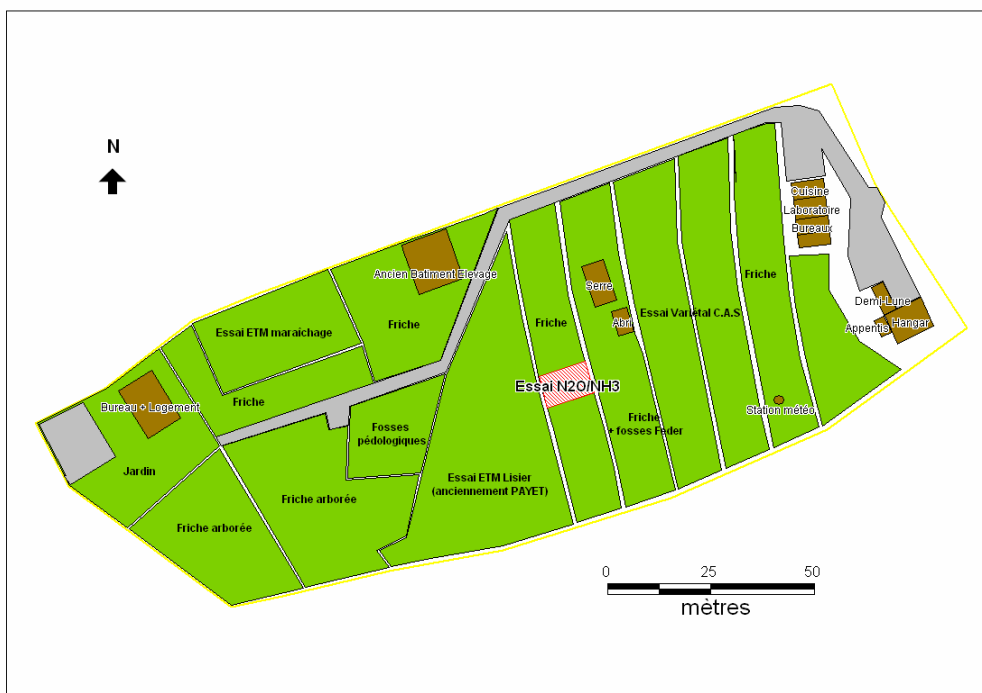
Le site de la station des Colimaçons a été retenu pour accueillir cette expérimentation car le sol y est représentatif d'une grande part de la surface agricole des hauts de l'ouest et parce qu'il a fait l'objet d'étude sur la lixiviation des nitrates et les flux hydriques.



Figure 7 : localisation du site des Colimaçons

2.1.1 Description du site de la station des Colimaçons

Le site est situé dans les hauts de l'ouest (commune de Saint Leu) à une altitude de 800m environ. La station couvre une surface d'1.5 ha environ et s'étend de bas en haut sur 200 m de long pour une largeur de 80 m. La pente moyenne y est de 20% mais plusieurs terrasses ont été aménagées sur lesquelles la pente varie de 0 à 10%.



- *Description du climat :*

Le climat sur la station est marqué par l’alternance d’une saison chaude et humide (été austral) avec une saison plus fraîche et sèche (hiver austral). Au cours de l’été austral, la survenue d’épisodes cycloniques peut entraîner une pluviométrie intense sur un court laps de temps.

Le graphique suivant présente la pluviométrie mensuelle moyenne pour les cinq dernières années ainsi que les températures mensuelles moyennes, pour la même période.

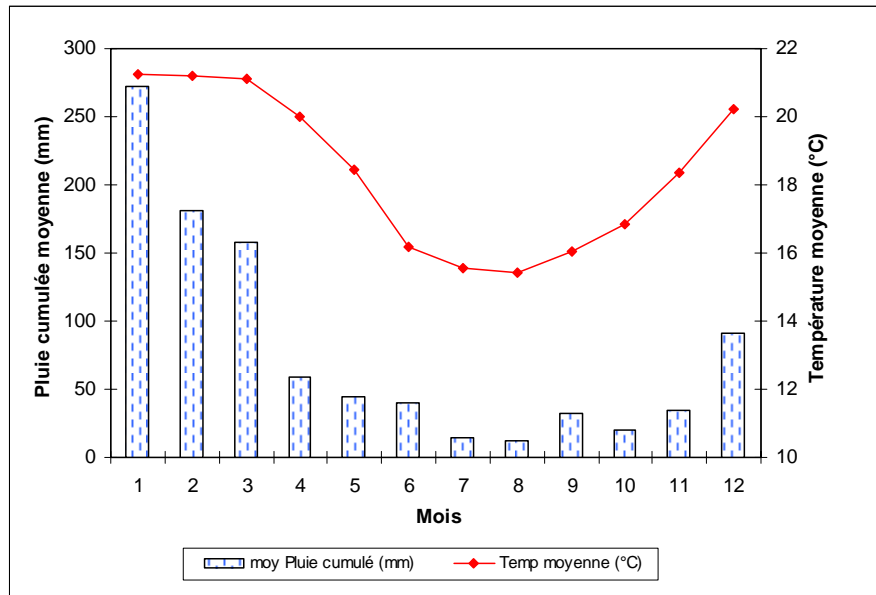


Figure 9 : Pluviométrie et température moyennes mensuelles aux Colimaçons (800m) pour la période 2000-2006.

2.1.2 Choix de la parcelle d’essai

Nous avons choisi la parcelle en fonction des critères suivants : celle-ci devait être placée à proximité de la parcelle utilisée par PAYET lors de son étude sur la lixiviation des nitrates, elle devait présenter une bonne homogénéité (estimée à partir de la couverture végétale) et un historique connu.

La parcelle retenue est donc située juste au dessus de celle utilisée par PAYET (figure 8). Elle présente une pente équivalente à cette dernière (environ 10%).

La parcelle sélectionnée n’a reçu aucune fertilisation ni essai depuis 1983. Elle a été occupée par une légumineuse (*Desmodium*) jusqu’en 2003 puis du sorgho suivi d’avoine ont été implantés sans fertilisation entre 2003 et 2005. Depuis, la parcelle est en friche et présente un couvert très homogène dominé par des graminées.

2.1.3 Méthode utilisée pour la mesure des émissions

- *Choix de la méthode :*

Pour quantifier les émissions de N_2O et NH_3 , nous avons choisi d’utiliser la *méthode des chambres* plutôt que la méthode des mesures micrométéorologiques ou celle utilisant l’azote isotopique.

En effet, la méthode utilisant l’azote isotopique bien que fiable et intéressante (WELL et MYROLD, 2002) est plus coûteuse, de même que celle basée sur les techniques

micrométéorologiques. De plus, ces dernières de part leur principe même (mesures de concentration de gaz de l'atmosphère au dessus d'un couvert végétal et de mesure de vents), sont plutôt adaptée à des mesure sur des échelles importantes de l'ordre de parcelles de plusieurs hectares à cause des effets de bordure et des risques de contamination.

- *Choix du type de cloche :*

Les cloches peuvent être de type « fermé », c'est-à-dire sans échange avec l'atmosphère extérieur, par opposition avec les cloches dites « ouvertes » (avec échange).

Les premières présentent l'intérêt de pouvoir mesurer de faibles flux, de ne pas être très coûteuses, d'être faciles à fabriquer et à utiliser tout en ne perturbant que de manière limitée le site d'implantation. Par contre les conditions sous les cloches peuvent être différentes de celles régnant à l'extérieur (concentration des gaz, fluctuation de la pression atmosphérique, humidité, température...) ce qui aurait des conséquences sur la précision des mesures.

Les chambres ouvertes ou à ventilation forcée, bien que plus coûteuses car plus élaborées, maintiennent des conditions environnementales proches de celles du champ et sont plus adaptées aux mesures en continue sur le long terme. Par contre, pour de petits essais avec plusieurs traitements, il y a un risque de contamination de l'atmosphère d'un traitement à l'autre.

Quelles soient ouvertes ou fermées, la taille des enceintes à une influence importante sur le coefficient de variation (CV) des mesures effectuées. Ainsi pour des mesures de flux de N_2O , le CV peut atteindre plus de 100% pour de petites enceintes (moins de 300 cm²) alors que pour des enceintes plus grandes (plus de 1000 cm²) on peut descendre à des CV de quelques dizaines de pourcent (KAISER *et al*, 1996).

- *Description des cloches :*

Afin de réduire la variabilité des mesures et que celles-ci soient extrapolables, les préconisations suivantes ont été suivies (BAKER *et al*, 2003) : cloches réalisées en matériaux inertes, peintes en blanches et d'une superficie au sol supérieure à 175 cm².

Deux modèles de cloche différents ont été utilisés pour quantifier les émissions de N_2O et NH_3 .



Figure 10 : Photos des cloches à N_2O et NH_3 et du dispositif expérimental

- Cloches à N_2O et CO_2 : au nombre de 20 et réalisé en PVC, celles-ci ont été fabriquées à la Station du Cirad de la Bretagne (Sainte Clotilde de la Réunion). Elles sont constituées d'une base enfoncée de quelques centimètres dans le sol et d'un diamètre de 22.5 cm environ (environ 430 cm² au sol), sur lequel vient se fixer un chapeau maintenu en pression sur la base par deux ressorts diamétralement opposés fixés sur celle-ci. Le chapeau est équipé d'un système permettant de prélever des échantillons d'atmosphère à la seringue (« septum »), d'un

petit ventilateur pour homogénéiser l'atmosphère sous cloche au moment du prélèvement et d'une sonde de type thermocouple pour la mesure de la température sous cloche.

Le principe de fonctionnement est le suivant : le chapeau est mis en place, on prélève un échantillon à la mise en place du chapeau et un autre après une heure. L'air sous les cloches est homogénéisé par ventilation avant chaque prélèvement (30 secondes). Les échantillons d'air prélevés (17 ml) avec une seringue TERUMO de 20ml de capacité sont injectés en surpression dans des tubes en verre de 12ml de type Exétainer (Labco). Après avoir été scellés à la cire, les exétainers sont envoyés à Montpellier pour être dosés au Chromatographe en Phase Gazeuse (CPG). La teneur en CO₂ est déterminée à l'aide d'un micro GC Agilent MTI 200 colonne capillaire Poraplot Q de 8 m et gaz vecteur He équipé d'un détecteur à micro catharomètre. Pour le N₂O on utilise un CPG Varian 3800 : (colonne Porapak de 3m et gaz vecteur argon-méthane équipé d'un détecteur à capture d'électrons. Les flux sont alors calculés avec la formule suivante :

$$F = V/A \cdot \Delta C/\Delta t$$

Avec F le flux gazeux en quantité d'élément/unité de surface/unité de temps, V le volume d'air de la chambre, A la surface circonscrite par la chambre et $\Delta C/\Delta t$ l'évolution de la concentration en gaz à l'intérieur de la chambre au cours du temps en quantité d'éléments/unité de volume/unité de temps (GIRARD *et al*, 2005).

Remarque : à la réception des cloches, celles-ci ont montrées quelques défauts d'étanchéité que nous avons corrigé du mieux que possible (points de colle renforcés à l'insertion des ressorts sur la base, ponçage de la surface de contact du sommet de la base avec le joint du chapeau). Certains ressorts de fixation n'étant pas parfaitement diamétralement opposés font courir le risque d'une pression inégalement répartie entre les zones de contact chapeau-base ce qui pourrait entraîner un risque de fuite.

- Cloches à NH₃ : au nombre de 40, celles-ci sont plus simples que les cloches à N₂O. Il s'agit de saladier d'un diamètre de 25 cm (environ 490 cm² au sol) qui ont été équipés d'un thermocouple chacun pour mesurer la température sous cloche.

Le principe de fonctionnement de ces cloches est le suivant : un piège à NH₃ constitué d'un filtre imprégné d'acide sulfurique molaire puis séché à 40°C pendant 24 à 48 heures est disposé sous cloche pendant 4 heures sur un support en acier inoxydable. L'ammoniac qui a été piégé sur le filtre est extrait en mettant ce dernier à tremper dans 180ml d'une solution de chlorure de potassium molaire (à 74.5 g/l de KCl). Le dosage de la solution est réalisé au laboratoire d'analyse de la Station de la Bretagne. Le flux d'azote est alors calculé en utilisant la formule suivante :

$$F = M/(A \cdot D)$$

Avec F le flux gazeux en quantité d'élément/unité de surface/unité de temps, M la quantité d'élément capturé sous la cloche, A la surface circonscrite sous la cloche en m², D la durée de l'exposition (WANG *et al*, 2004).

2.1.4 Description du dispositif expérimental

Sachant qu'il y a un risque d'hétérogénéité lié à la pente nous avons opté pour un dispositif en deux blocs disposés dans le sens de la pente (Blocs A et B), chacun d'eux contenant 5 « sous blocs » disposés perpendiculairement au sens de la pente numérotés de 1 à 5. Chaque sous bloc contient deux parcelles élémentaires (PE) par traitement soit quatre PE en tout par bloc (deux répétitions/bloc). Il y a donc en tout 20 parcelles élémentaires (5 sous blocs*4 PE/bloc).

Il s'agit d'un essai avec trois variables à expliquer (flux de N₂O, flux de CO₂ et flux de NH₃) et deux facteurs explicatifs : le traitement à deux niveaux (avec ou sans épandage de lisier) et la pente à 5 niveaux (correspondant aux cinq sous blocs).

Les PE font 1 m² et sont séparées les unes des autres par un passage d'un mètre. Les PE recevant un apport de lisier et celles sans lisier ont été disposés alternativement au sein de chaque sous bloc et en quinconce entre les sous blocs, cela afin de ne pas perturber les résultats avec une éventuelle hétérogénéité du sol qui serait distribuée perpendiculairement au sens de la pente.

Nous avons décidé de conduire cet essai sur sol nu afin de limiter le nombre de paramètres à prendre en compte (prélèvements par les plantes). Pour cela un traitement antigerminatif a été appliqué quinze jours avant le début des mesures (AMEX480 à la dose de 7.5l/ha).

- *Plan du dispositif :*

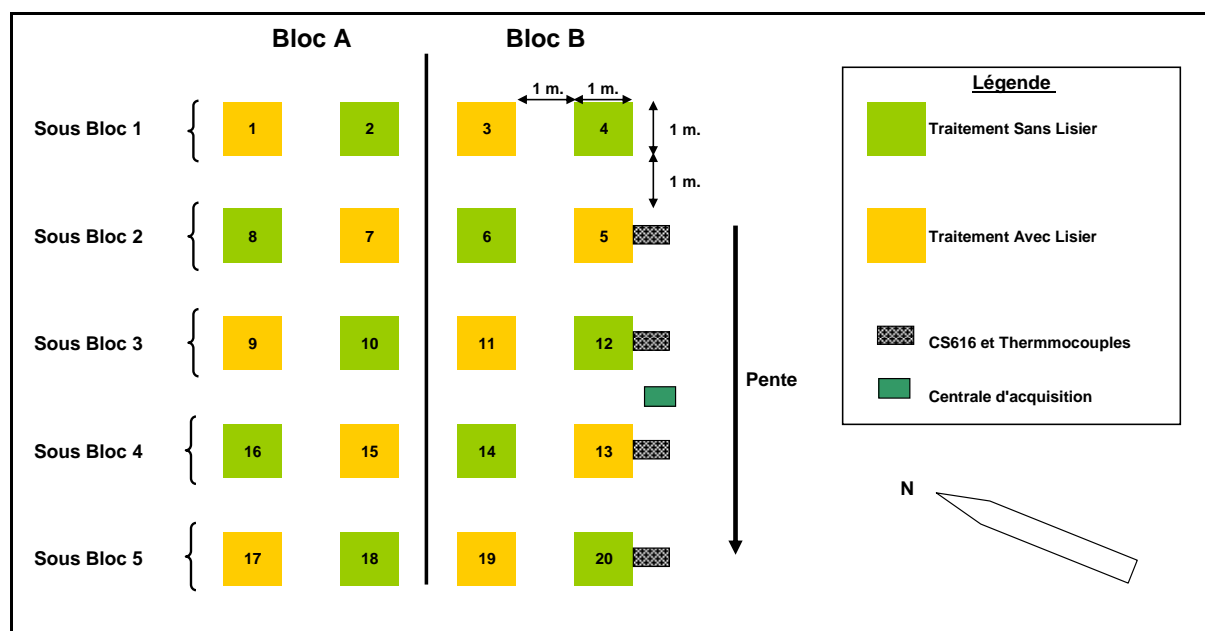


Figure 11 : Plan du dispositif expérimental

- *Détermination de la dose de lisier à épandre et de la quantité d'eau à apporter*

La dose de lisier à épandre a été déterminée en fonction d'un objectif de 200 kg d'N/ha et de la teneur moyenne en azote des lisiers de porc à la Réunion (cf. tableau 1) soit 5.7l/m².

Tableau 1 : Principales caractéristiques des lisiers de porc

Caractéristiques générales				Eléments fertilisants (kg/t de produit brut)						Métaux Lourds (mg/kg de MS)	
C/N	pH	MS	MO	N	N-NH ₄	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO	Cu	Zn
4,8	8-9	46	35	3,5	2,1	2,3	3,4	2,1	1,0	363	1080

Modalité d'apport : à partir d'un bac de 100 litres de lisier, on prélève 10 litres à l'aide d'un sceau gradué et on verse un litre dans chacun des dix seaux prévus à cet effet. On recommence l'opération 6 fois, le dernier apport ne correspondant qu'à 0.5 litre. On transfère alors le lisier des seaux dans un arrosoir et on l'épand sur une des parcelles devant recevoir le lisier.

La quantité d'eau à apporter avant l'épandage de lisier devait être maximale afin d'obtenir des conditions favorables aux émissions de N_2O tout en évitant les risques de ruissellement (risque de contamination entre PE). Un arrosage correspondant à 20mm a finalement été retenu et apporté par microaspersion (un microasperseur par PE). Un dispositif de paillage végétal a été mis en place entre les PE afin de réduire les risques de ruissellement sur cette zone qui se retrouve tassée du fait de passages fréquents.

- *Calendrier de mesure :*

Les dates retenues pour les prélèvements d'atmosphère sont les suivantes (par rapport au jour du traitement) : T-14 jours, T-6 jours, T0 (épandage du lisier), T+1 jours, T+2 jours, T+3 jours, T+6 jours, T+9 jours et T+18 jours soit en tout 9 séries de prélèvements. La date prévisionnelle d'épandage du lisier a été fixée au 02/07/07.

Ce calendrier nous permet de nous assurer de l'homogénéité initiale des parcelles avec et sans apport de lisier (deux mesures prévues avant épandage) puis de suivre l'évolution des émissions sur une période suffisamment longue après traitement.

- *Suivi de l'azote minéral :*

L'azote minéral (N_{min}) a été suivi pour les horizons 0-10, 10-30 et 30-60 cm selon le calendrier suivant : prélèvement avant la première série de mesure (deux échantillons, un pour la partie haute de l'essai, un pour la partie basse), le jour de l'épandage de lisier de porc, une semaine après et le lendemain de la dernière série de mesure. Pour le dernier jour de suivi, l'horizon 60-90 a également été échantillonné alors que le jour de l'épandage, nous n'avons pu échantillonner que les deux horizons supérieurs par manque de temps.

Pour cela, on fait sur chaque parcelle élémentaire un prélèvement par horizon étudié, puis on réalise un échantillon par traitement et par horizon que l'on envoie pour analyse au laboratoire local. Pour les prélèvements, une tarière à gouge a été utilisée afin d'éviter les risques de contaminations inhérents à l'utilisation de la tarière à vis. Afin de modifier au minimum la circulation de l'eau à l'intérieur du sol, les trous ont été rebouchés après chaque prélèvement avec de la terre ayant reçu ou non une dose de lisier selon la PE concernée.

Ce suivi doit nous permettre de comprendre la dynamique de production des gaz azotés étudiés en relation avec de la dynamique de l'azote minéral du sol.

Nous avons utilisé les valeurs de densité apparente mesurées par PAYET (2005) pour chaque horizon pour traduire en termes de stocks de N par unité de surface ($N \text{ g m}^{-2}$) les résultats en valeur pondérale ($N \text{ mg kg}^{-1}$) du laboratoire d'analyse : $d_a = 0.97$ pour l'horizon 0-10 cm, 0.92 pour l'horizon 10-30 cm et 0.8 pour les horizons 30-60 et 60-90 cm.

- *Suivi de l'humidité et de la température dans le sol :*

Ces deux paramètres étant déterminant pour les phénomènes de nitrification et dénitrification, il est nécessaire de pouvoir suivre leur évolution au cours de l'expérimentation. Ainsi, pour mesurer la température nous avons opté pour l'utilisation de thermocouple dont une bobine était disponible. Pour ce qui est de l'humidité nous avons choisi pour les mêmes raisons des sondes CS616 qui présentent l'intérêt d'être une technique non destructive.

Les sondes TDR nécessitent d'être calibrées pour coupler la période τ du signal mesurée par la sonde à l'humidité volumique θ du sol. Nous avons pour cela utilisé l'équation déterminée par PAYET au cours de son étude : $\theta = -0,1903 \cdot \tau^2 + 15,326 \cdot \tau - 233,44$

Pour chaque parcelle élémentaire désignée nous avons installé un thermocouple et une sonde CS616 par horizon étudié, soit 3 thermocouples et 3 CS616 (Campbell) par parcelle. Les sondes ont été disposées sous quatre parcelles élémentaires, soit deux parcelles par traitement afin de pouvoir déceler éventuellement une différence liée au traitement. Les parcelles

équipées sont situées en bordure latérale afin d'avoir une bonne représentativité de l'hétérogénéité liée à la pente tout en évitant de modifier les conditions d'écoulement de l'eau en milieu de parcelle (voir plan du dispositif).

Afin de pouvoir collecter les données, nous avons utilisé une centrale d'acquisition CR10X (Campbell) connectée à un multiplexeur AM416 (Campbell), le tout étant alimenté par une batterie de 12 Volts.

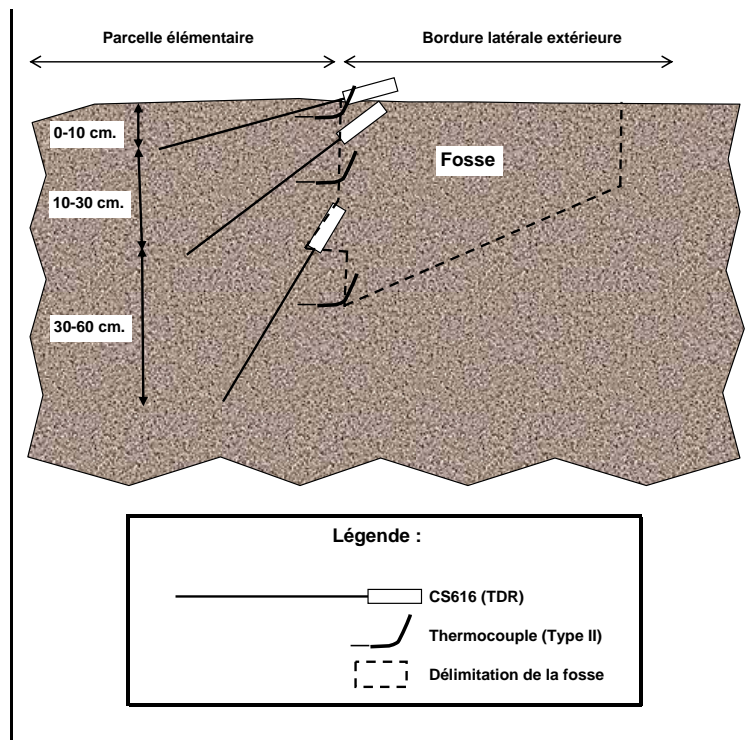


Figure 12 : Implantation des sondes dans les fosses

- *Suivi météorologique :*

Les données météorologiques (pluviométrie et température de l'air) ont été recueillies par la station météorologique automatique du CIRAD installée sur le site des Colimaçons à 50 mètres de l'essai.

Pour ce qui est des températures de l'air sous les cloches, nous avons utilisé une centrale d'acquisition portable de type 21X (Campbell) avec un programme permettant de lire la température à partir de sondes thermocouples installées sur les cloches.

2.2 Relations entre le taux de remplissage des pores en eau (WFPS) et la dynamique de dénitrification

2.2.1 Principe

Dans cette expérience, on impose aux échantillons de sol enrichis en ammonium par un apport de $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$, un gradient d'humidité exprimé en termes de WFPS et on détermine la relation nitrification = f(WFPS) par un suivi dynamique à court terme (7 jours).

Le WFPS (Water-Filled Pore Space) permet de rendre compte de l'effet de l'humidité du sol sur l'activité microbienne. Ce paramètre, très souvent utilisé dans les modèles de prédiction de flux de gaz, est défini par la formule suivante (LINN et DORAN, 1984) :

$$\text{WFPS}(\%) = \theta / n * 100$$

où θ est la teneur en eau volumique ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$), $\theta = m \times \gamma_d$, n est la porosité, $n = 1 - (\gamma_d / \gamma_s)$ et m est la teneur en eau gravimétrique ($\text{g g}^{-1} \text{ sol sec}$) ; γ_d la densité apparente (g cm^{-3}) et γ_s la densité de solide (g cm^{-3}).

La densité apparente a été déterminée à partir de 15 échantillons de sol. Le résultat obtenu ($\gamma_d = 0.85$, $\text{CV} = 3.5\%$) est différent de celui obtenu par PAYET pour le même horizon (0.97), ce qui peut s'expliquer par une humidité différente du sol au moment du prélèvement (PAYET, 2005). Pour la densité de solide nous avons retenu la valeur de 2.5 g.cm^{-3} déterminé par McTAGGART *et al* (2003) pour un andosol.

Les correspondances entre WFPS et teneur en eau gravimétrique obtenues en fin d'expérience sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Teneur en eau gravimétrique mesurée en fin d'expérience

Traitement	Teneur en eau gravimétrique (g.g de sol sec)	W.F.P.S. (%)	CV (%)
T1	0,16	20,6	0,3
T2	0,31	39,8	0,2
T3	0,46	59,3	1,4
T4	0,61	79,0	0,5
T5	0,71	90,8	0,9
T6	0,73	93,7	2,0
T7	0,73	93,7	2,9

2.2.2 Mode opératoire

La détermination de la relation entre le WFPS et la dynamique de nitrification en condition de substrat ammoniacal non limitant s'est faite d'après le protocole suivant avec trois répétitions: Sept coupelles numérotées de 1 à 7 reçoivent 22.5 g chacune de terre séchée à 40°C et tamisée à 2 mm (sol remanié). Les six premières reçoivent 1 ml d'une solution de $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ à 34.01 g.l^{-1} , la septième coupelle ne recevant qu'un ml d'eau osmosée (témoin).

La terre de chacune des coupelles est alors transférée dans des coupelles d'incubation de type «plasthom». On ajoute alors dans chaque coupelle d'incubation une quantité d'eau osmosée correspondante à un niveau croissant de WFPS, les coupelles 6 et 7 recevant la quantité maximale d'eau osmosée correspondant au plus haut niveau de WFPS.

Les coupelles d'incubation sont alors suspendues dans des flacons sérum de volume nominal de 500ml grâce à des fils en nylon destiné à faciliter l'homogénéisation de l'atmosphère des flacons et à pouvoir récupérer facilement les coupelles. Les flacons sont alors fermés

hermétiquement (bouchon septum), on réalise un premier prélèvement d'atmosphère à la seringue « Terumo » (2 * 8.5 ml par flacon) que l'on remplace par la même quantité d'atmosphère du labo. Les flacons sont alors mis à l'étuve à une température de 28°C et l'évolution de l'atmosphère dans les flacons est assuré sur 7 jours par des prélèvements réalisés à T0, T + 24 heures, T + 48 heures, T+ 96 heures et T+ 168 heures.

En fin d'expérimentation, les coupelles sont récupérées, on prélève 10 g de terre dans chacune d'elle pour extraire l'azote minéral dans 40 cl d'une solution de KCl molaire et on détermine l'humidité sur le reste de terre. Les extraits KCl sont transmis au laboratoire local pour analyse et les prélèvements d'atmosphère au laboratoire métropolitain (même matériel que pour les dosages sur l'essai terrain).

A partir des résultats d'analyses des extraits KCl, les teneurs en N-NH_4^+ et N-NO_3^- en fin de période d'incubation ont été calculées ($\text{N mg /kg de sol sec}$) en tenant compte des 40 ml de KCl et du volume d'eau apporté avec l'échantillon.

2.2.3 Echantillons de sols étudiés

L'expérience, initialement prévue sur des échantillons de terre ayant reçu ou non des apports de lisier n'a, en fait, dans le cadre de ce stage pu être réalisée que sur un échantillon de terre de l'horizon superficiel (0-10cm) de la parcelle étudiée par PAYET (2005) et qui avait reçu depuis 2003 un apport de lisier par an.

Nous avons choisi cet échantillon de sol afin de pouvoir obtenir des pistes susceptibles d'expliquer le défaut de bilan d'azote minéral observé sur cette parcelle entre 2003 et 2005.

2.3 Mesure des activités dénitrifiantes potentielles et réelles

2.3.1 Principe

Cette détermination consiste en une mesure des activités dénitrifiantes potentielles et réelles d'échantillons de terre au moment du prélèvement en anaérobiose totale (remplacement de l'atmosphère des flacons par de l'hélium), en conditions non limitantes de substrat (ajout de NO_3K) et d'énergie (ajouts de glucose et acide glutamique).

L'activité dénitrifiante est mesurée sur la population microbienne existante au moment du prélèvement avant toute multiplication de cette population (durée d'incubation limitée à 4 heures) consécutive à l'établissement de conditions particulièrement favorables à la dénitrification.

2.3.2 Mode opératoire

La technique utilisée qui est inspirée des travaux de LENSI *et al* (1985) est jointe en fin de document (annexe 1).

2.3.3 Echantillons de sol étudiés

Les échantillons testés proviennent de profils de sol de la station des colimaçons, correspondant à trois traitements : T= parcelle n'ayant jamais reçu d'apport de lisier, L- = parcelle ayant reçu un apport de lisier juste avant le prélèvement, L+ = parcelle recevant tous

les ans un apport de lisier depuis 2003 (parcelle utilisée par PAYET). Les prélèvements analysés portent sur des échantillons moyens des couches 0-10 cm ; 10-30 cm ; 30-60 cm et 60-90 cm et ce pour chaque traitement.

Le choix des horizons testés a été fait afin d'avoir des données sur la variation des activités dénitrifiantes en fonction de la profondeur.

Le choix des parcelles s'est fait afin de pouvoir faire ressortir un effet potentiel lié à l'épandage plus ou moins fréquent de lisier de porc sur ce type de sol.

2.4 Analyse des résultats

Pour l'essai terrain, les flux de N₂O ont été traités statistiquement après transformation lognormal alors que pour les résultats des expérimentations en laboratoire, cela n'a pas été le cas.

La comparaison des moyennes a été faite avec le test de Newman-Keuls, à $P = 0.05$.

III- Résultats et discussions

3.1 Emissions de N_2O et NH_3 sur l'essai terrain

3.1.1 Conditions météorologiques au cours de l'expérimentation

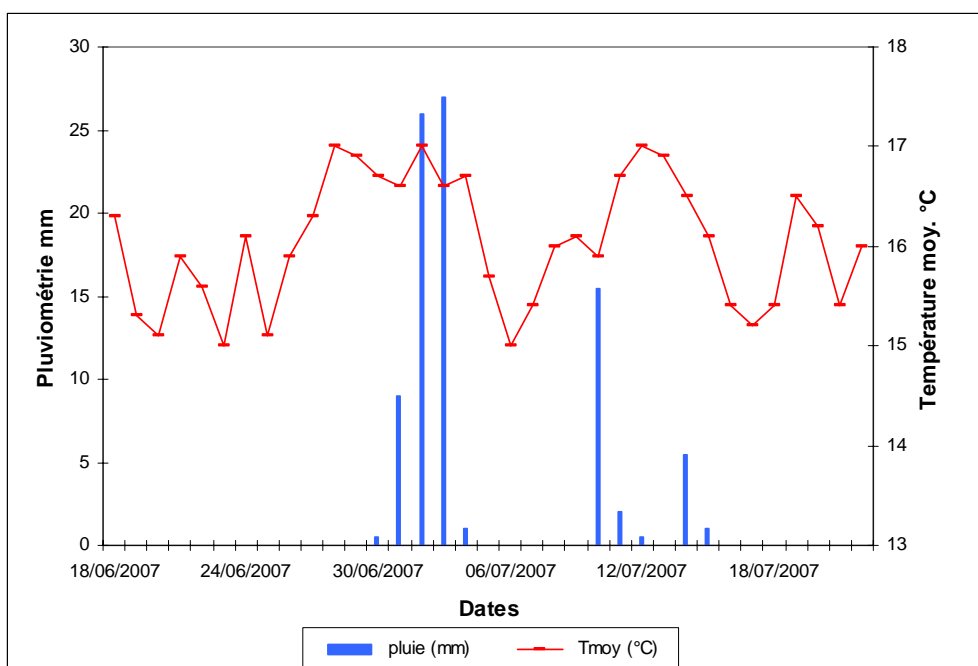


Figure 13 : Température et pluviométrie au cours de l'essai

Nous avons été surpris par les pluies survenues entre le 30 juin et le 04 juillet. Sur quatre jours, le cumul des pluies s'est élevé à 63.5 mm ce qui est assez important pour cette période de l'année. Cela nous a obligé à décaler l'épandage de lisier du 02 au 04 juillet afin d'éviter tout risque de ruissellement qui aurait entraîné une contamination entre parcelles.

La température moyenne de saison est restée relativement stable entre 15 et 17°C alors que l'amplitude thermique quotidienne a varié entre 9.7 et 4.1°C.

3.1.2 Evolution de l'humidité du sol

Globalement les sondes TDR CS616 ont bien répondu aux pluies et arrosage sauf le 06/07/07 (entouré sur la figure 14) où l'on observe une augmentation de l'humidité du sol alors qu'aucune pluie n'a été enregistrée, ni sur la station des Colimaçons, ni sur les stations météorologiques présentes alentours. Nous n'avons pas trouvé d'explication à ce phénomène. L'absence de données entre le 30/06 et le 03/07 ainsi qu'entre le 13/07 et 16/07 s'explique par un court circuit au niveau du système d'acquisition des données en lien avec les fortes pluies. Le fusible de protection a donc dû être changé deux fois.

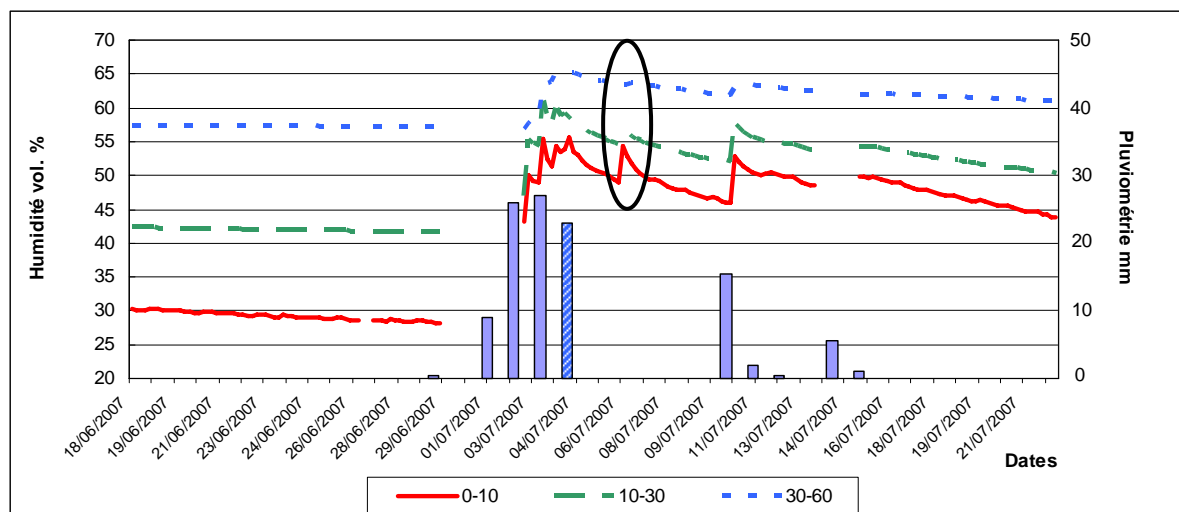


Figure 14 : Evolution de l'humidité du sol au cours de l'essai (arrosage en barre rayée)

Les mesures d'humidité des sondes installées à même profondeur ont des coefficients de variation moyens de 3.2, 7.5 et 6.5 % respectivement pour les horizons 0-10, 10-30 et 30-60 cm. Cependant, ceux-ci augmentent au cours des événements pluvieux ce qui reflète probablement une hétérogénéité du sol en lien avec la circulation de l'eau (présence de zones d'écoulement préférentiel ou de stagnation).

Avant le traitement, les horizons étudiés présentent des humidités volumiques hétérogènes et croissantes avec la profondeur (de 30 à 57%) alors qu'au moment de l'épandage, du fait des pluies et de l'arrosage les humidités sont plus homogènes entre horizons (entre 55 et 65%).

Nous avons transformé les données sur l'humidité volumique du sol en WFPS avec la formule $WFPS = H_{vol} / (1 - \text{densité apparente} / \text{densité de solide})$, ce afin de pouvoir comparer les résultats obtenus avec ceux issus de l'expérimentation sur la relation entre WFPS et activité dénitrifiante (figure 15).

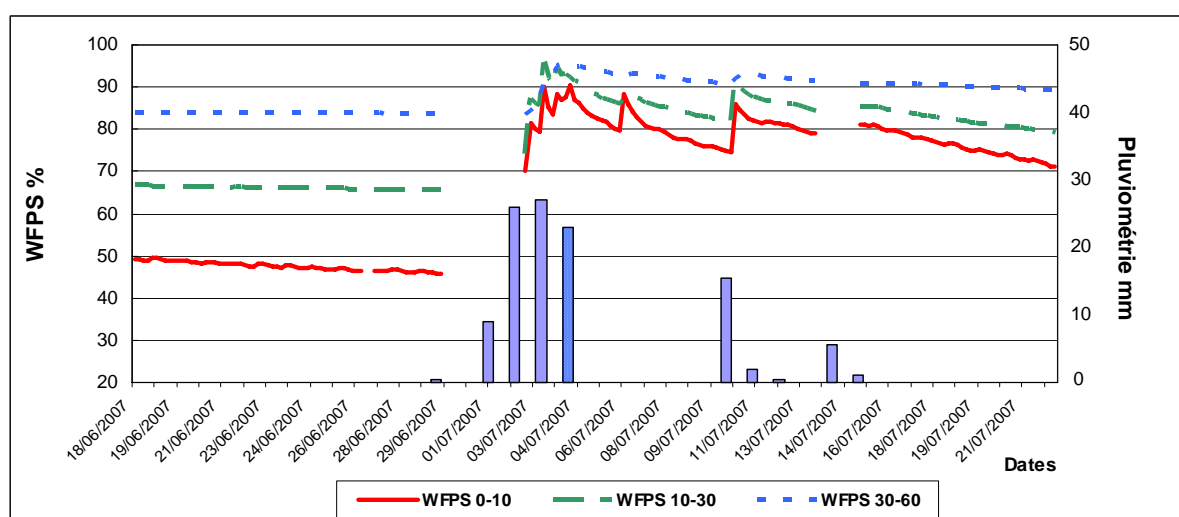


Figure 15 : WFPS (%) des horizons étudiés

Les températures mesurées dans le sol par les sondes thermocouples ont montré des valeurs aberrantes (proche de 0°C) nous avons donc décidé de ne pas en tenir compte ici.

3.1.3 Caractéristiques du lisier apporté

Les caractéristiques du lisier (cf. tableau 3) déterminées à partir de deux échantillons prélevés le jour de l'épandage sont différentes des moyennes indiquées par CHABALIER *et al* (2006).

Tableau 3 : Principales caractéristiques du lisier apporté			
	Lisier apporté		Chabaliér, 2006
	kg/t de produit brut	CV %	kg/t de produit brut
MS	8,1	13,0	46
MO	4,2	18,0	35
Ntot	1,6	3,4	3,5
N-NH4	1,4	4,7	2,1

Ainsi, le lisier apporté est très liquide par rapport aux références locales et le rapport C/N de la matière organique de celui-ci est de 11.6, ce qui ne devrait pas entraîner d'immobilisation importante de l'ammonium du lisier.

Le lisier contient moins d'azote que prévu et la dose apportée n'est finalement que de 90 kg d'N/ha environ dont 87% sous forme ammoniacal.

3.1.4 Bilan de l'azote minéral du sol

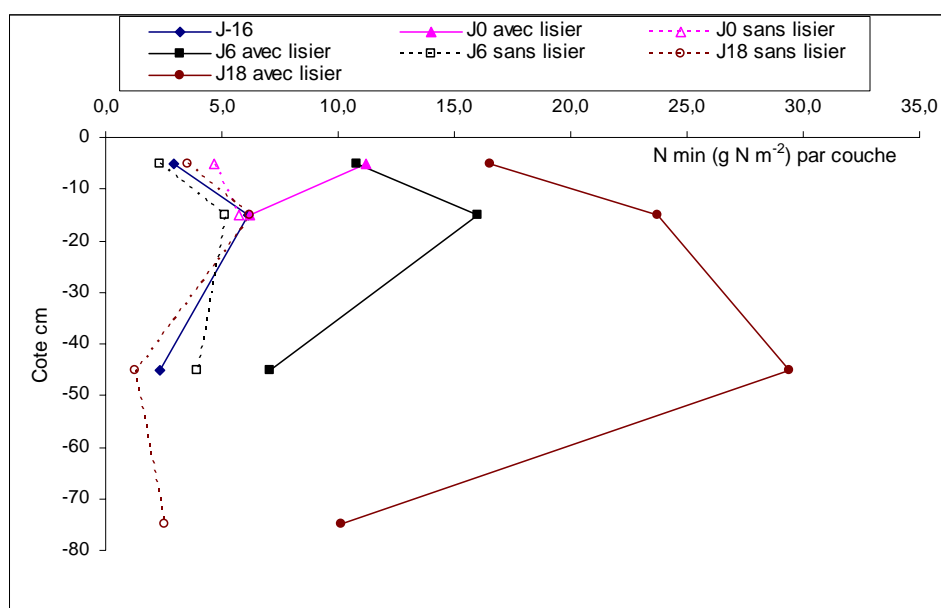


Figure 16 : Evolution de la teneur en azote minéral dans le sol

L'évolution du stock d'azote minéral ($\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-$) par tranche de terre pendant les trois premières semaines suivant l'apport de lisier (figure 16) montre pour les deux derniers jours de suivi une augmentation de la quantité d'azote minéral dans le sol pour le traitement lisier bien au-delà de la quantité d'azote apportée par celui-ci.

En effet alors que pour le traitement sans lisier, la quantité d'azote minéral du sol n'évolue quasiment pas sauf pour l'azote ammoniacal dans l'horizon superficiel (tableau 6), on obtient après soustraction de l'azote apporté par le lisier (9 g d'Nmin/m^2) une augmentation de $24,5 \text{ g d'azote minéral/m}^2$ dans les trente premiers centimètres du sol sur une période de 18 jours

pour le traitement lisier (cf. tableau 3). Cet azote est constitué à 59 pourcent par de l'azote ammoniacal et à 41% par de l'azote nitrique. Sur une épaisseur de 60 cm l'augmentation de la quantité d'azote minéral correspondrait à 53 g d'N /m².

Pour comparaison, PAYET a trouvé des valeurs de minéralisation de l'ordre de 10 g d' N-NO₃- par m² au cours du mois de mars 2004, valeurs qu'il a jugées préférable de ne pas prendre en compte dans son bilan (PAYET, 2005).

Seule une intense minéralisation de la matière organique du sol pourrait expliquer cette augmentation qui représente environs 2.7 pourcent de l'azote organique présent dans le sol au début de l'expérimentation.

Le faible rapport C/N du lisier utilisé favorise donc une surminéralisation de N du sol de même que les conditions d'humidité du sol. le jour de l'épandage du lisier 97.8% de la quantité d'azote minéral apporté par celui est retrouvée dans le sol (cf. tableau 4) ce qui est cohérent avec les faibles pertes gazeuses mesurées par ailleurs. Les valeurs obtenues sont cohérentes car on observe bien une différenciation entre les deux traitements et une évolution dans le temps qui indique bien une migration des nitrates vers la profondeur.

Tableau 4 : Evolution de la quantité d'azote minéral dans les horizons de surface (g d'N/m²)

Traitement	Horizon	18/06/2007	04/07/2007	10/07/2007	22/07/2007
Avec Lisier (AL)	0-10	3,34	12,76	12,33	18,83
	10-30	6,63	6,73	17,30	25,69
	Total	9,98	19,50	29,63	44,52
Sans Lisier (SL)	0-10	3,34	5,32	2,63	4,00
	10-30	6,63	6,23	5,57	6,68
	Total	9,98	11,55	8,20	10,68
Différence AL - SL			7,95	21,44	33,85
Apport Lisier Ntot			9,32		
Apport Lisier Nmin			8,12		

Le sol présente au départ des teneurs en N minéral de 3.34 g.d'N/m² entre 0 et 10 cm, 6.6 g.d'N/m² pour l'horizon 10-30 cm et 2.3 g.d'N/m² entre 30 et 60 cm avec une proportion d'azote nitrique dans chaque horizon respectivement de 91, 90 et 71%.

La quantité de matière organique est assez élevé et présente un rapport C/N de 10.1 tous horizons confondus (cf. tableau5). L'azote minéral ne représente que 0.6 % de l'azote organique pour les 60 premiers centimètres.

Tableau 5 : Carbone total et azote organique présents dans le sol

	C tot	N org
Horizon	g de C/m²	g de N/m²
0-10	4472	436
10-30	8528	810
30-60	7068	733
Total	20068	1979

L'étude de l'évolution des quantités des différentes formes d'azote minéral dans le sol (cf. tableau 6) montre que pour le traitement sans lisier, la quantité de N-NH₄ augmente de 2.28 g/m² entre le 18/06 et le 04/07. De plus on retrouve à peu près la même valeur pour le traitement lisier après soustraction de la quantité d'N-NH₄ présente au 18/06 et de celle apportée par le lisier à la quantité présente au 04/07 (10.49 – 0.3 – 8.12 = 2.07 g d'N-NH₄/m²).

Cela peut s'expliquer (i) soit par une contamination des parcelles sans lisier par une partie de l'azote ammoniacal du lisier par diffusion dans l'eau du sol, (ii) soit par la minéralisation

d'une partie de l'azote organique du sol. Si l'on retient cette hypothèse, cela revient, en considérant que les conditions d'humidité du sol (WFPS > 45%) ont été favorables à l'activité microbienne (LINN et DORAN, 1984) entre ces deux dates, à une vitesse de minéralisation de 0.14 g d'N/m²/j (2.28 g.d'N/m² / 16jours) ce qui est cohérent avec les résultats obtenus par MORVAN *et al* (2003) pour ce type de sol.

Par contre entre ces deux dates, on ne constate pas d'augmentation de la quantité d'azote nitrique pour l'horizon 10-30 cm, les quantités présentent au 04/07 étant inférieure à celle du 18/06, sans différence notable entre traitements avec lisier ou sans lisier (respectivement -0.56 et -0.52 g. d'N/m²).

Entre le 04/07 et le 10/07, on observe une diminution de la quantité d'N-NH₄ en surface pour les deux traitements (-1.66 g d'N/m² pour le traitement lisier et -2.29 d'N/m² pour le traitement sans lisier). Pour le traitement lisier cette baisse est compensée par une augmentation de la quantité d'azote nitrique (+1.55 g. d'N/m²) résultant probablement de la nitrification de l'ammonium.

Par contre on observe une augmentation importante de la quantité de NH₄ pour l'horizon 10-30 cm et dans une moindre mesure dans l'horizon 30-60 du traitement lisier, ce qui pourrait être imputable soit à l'activation de la minéralisation à ces profondeurs soit à un transfert depuis l'horizon de surface. Pour le NO₃, on observe également une augmentation des quantités présentes dans les horizons profonds mais de manière moins marquée que pour l'ammonium sauf pour l'horizon le plus profond ce qui semble indiquer une lixiviation relativement rapide des nitrates formés.

Enfin, entre les deux derniers jours de suivi, on constate une forte augmentation de la quantité d'azote minéral pour le traitement lisier surtout pour le NO₃ dont la quantité double pour les deux horizons supérieurs et triple entre 30 et 60cm. L'azote ammoniacal connaît sa plus forte progression entre 30 et 60 cm avec une multiplication par 6 de la quantité présente au 10/07.

Tableau 6 : Evolution de la quantité d'N-NH₄ et N-NO₃ dans les différents horizons du sol (g. d'N/m²)

Traitement	Forme d'N	Horizon	18/06/2007	04/07/2007	10/07/2007	22/07/2007
Avec Lisier	N-NH₄	0-10	0,30	10,49	8,83	11,84
	N-NH₄	10-30	0,67	1,33	10,82	14,60
	N-NH₄	30-60	0,67	N.D.	2,69	17,29
	N-NO₃	0-10	3,04	2,28	3,50	6,99
	N-NO₃	10-30	5,96	5,40	6,48	11,09
	N-NO₃	30-60	1,67	N.D.	4,39	12,14
Sans Lisier	N-NH₄	0-10	0,30	2,58	0,29	0,41
	N-NH₄	10-30	0,67	0,79	0,79	0,44
	N-NH₄	30-60	0,67	N.D.	0,69	0,73
	N-NO₃	0-10	3,04	2,74	2,34	3,59
	N-NO₃	10-30	5,96	5,44	4,78	6,23
	N-NO₃	30-60	1,67	N.D.	3,22	0,56

3.1.5 Emissions de NH_3

Celles-ci ne sont pas significativement corrélées à l'apport de lisier mais le sont par rapport à la date de mesure et à la position des blocs en fonction de la pente ce qui pourrait s'expliquer par (i) les pluies survenues juste avant l'épandage qui ont pu activer la minéralisation du sol, produisant ainsi de l'azote ammoniacal dont une part a été volatilisée sur les parcelles n'ayant pas reçu de lisier ce qui pourrait expliquer l'absence de différence significative entre traitement avec ou sans lisier, (ii) une possible contamination des pièges à NH_3 par de l'ammoniac en provenance de la parcelle utilisée par PAYET (2005), les moyennes de flux par sous bloc étant croissantes au fur et à mesure que l'on se rapproche de celle-ci aux périodes de pic, (iii) une hétérogénéité du sol portant sur un facteur déterminant quand aux pertes par volatilisation (pH, teneur en ammonium).

Les valeurs de flux restent faibles avec un flux moyen correspondant à 1,5 g d'N.m⁻². an⁻¹ environ et à 16% de l'azote apporté par le lisier (18.5% de l'azote ammoniacal apporté). Les flux mesurés sont probablement moins importants que les flux réels, WANG *et al* (2004) ayant montré que les chambres fermées sont moins précises que les chambres ouvertes pour des mesures de flux de NH_3 avec des taux de capture de l'azote émis respectivement de 70.8% et 99.5%. Cela ramènerait le flux moyen réel à 2.14 g d'N.m⁻². an⁻¹ soit 23% de l'azote apporté. Ces faibles valeurs s'expliquent par le fait que le lisier apporté était très liquide et qu'il a été épandu sur sol nu. Il a donc probablement été rapidement absorbé par le sol, ce qui a limité les pertes pour ce traitement en comparaison avec ce qui a pu être mis en évidence par Morvan *et al* (1997) et GENERMONT *et al* (2002).

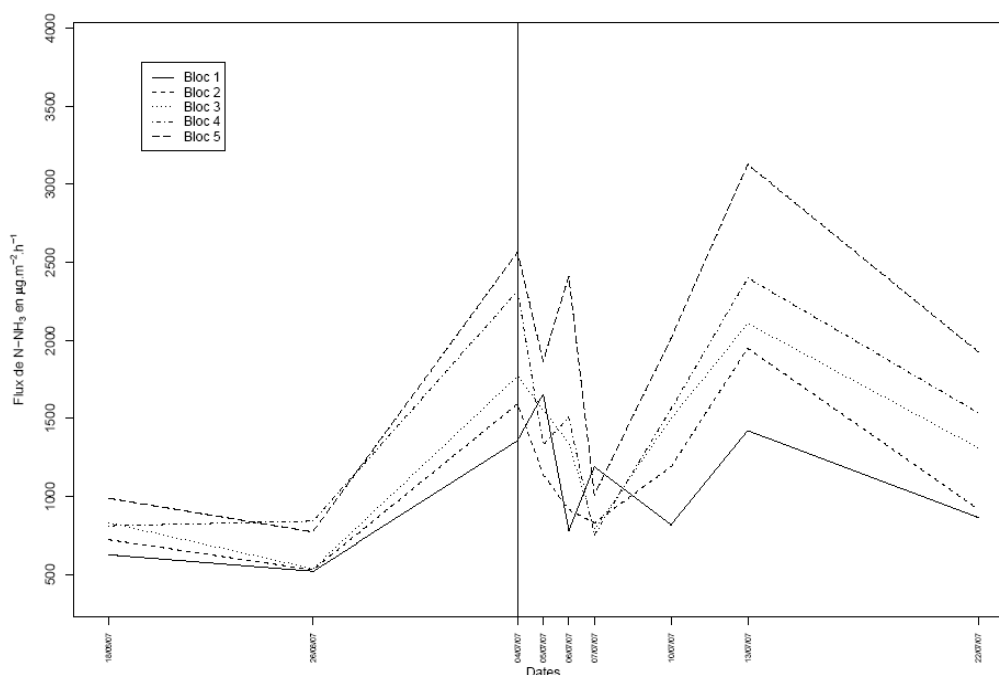


Figure 17 : Evolution des émissions de NH_3 au cours du temps

3.1.6 Emissions de N₂O

Les mesures de flux ont montré une forte variabilité, avec des valeurs de flux négatifs sur certaines cloches pour les deux traitements sauf le jour de l'épandage et le lendemain pour le traitement lisier, situations pour lesquelles les coefficients de variation sont les moins élevées (respectivement 53 et 62%).

Aucune différence significative n'a été constatée entre traitement pour les deux dates ayant précédées l'apport de lisier, ce qui montre que le dispositif expérimental permet de répartir correctement l'hétérogénéité potentielle du sol de la parcelle.

Les flux négatifs ou nuls ont été remplacé par la valeur 0.001 pour l'analyse statistique pour être compatible avec une distribution Lognormale. Les flux négatifs ont été nombreux avec une moyenne de 40% des flux mesurés pour les parcelles sans lisier et 28% pour les parcelles avec lisier. La différence entre parcelles avec ou sans lisier s'est fait les deux premiers jours après épandage, les parcelles sans lisier ne présentant aucun flux négatif à ces deux dates contre 10% et 40% pour les parcelles sans lisier. Ces flux négatifs peuvent être dues soit au seuil de détection des appareils de mesure, soit à un dysfonctionnement des cloches (fuites) ou encore refléter une consommation net de N₂O par les microorganismes du sol. Les incertitudes régnant dans la littérature sur les facteurs favorables à une consommation net de N₂O (CHAPUIS LARDY *et al*, 2006) ne nous permettent pas de trancher entre ces différentes hypothèses.

Les émissions moyennes de NO sont significativement plus élevées pour le traitement avec lisier le jour de l'apport et le lendemain, alors que pour les jours précédents et suivants ce n'est pas le cas. Les émissions moyennes de N₂O restent cependant supérieures pour le traitement avec lisier après l'apport sauf pour le dernier jour de mesure.

On peut donc considérer que l'apport de lisier a eu un effet significatif sur les émissions de N₂O tout de suite après l'apport mais que cet effet ne se fait plus ressentir après. Le flux moyen maximal est observé le jours de l'épandage (73.27 µg d'N-N₂O/h/m²) mais diminue très rapidement dès le lendemain, du fait peut être de l'intervention de la N₂O réductase.

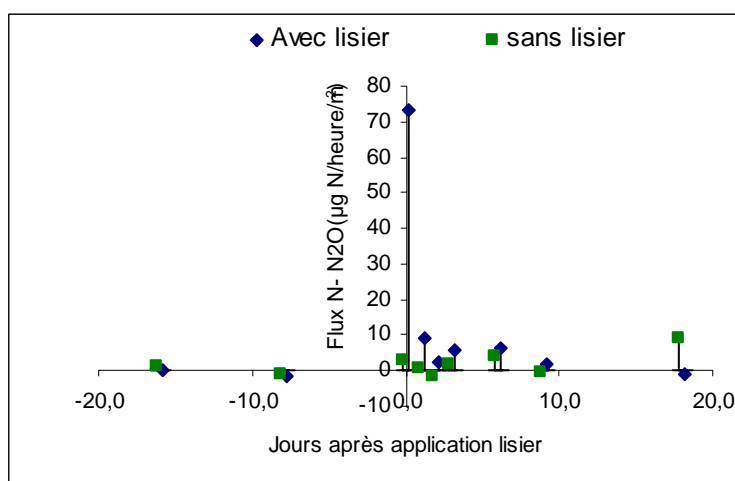


Figure 18 : Flux de N-N₂O mesurés au cours de l'expérimentation

3.1.7 Emissions de CO₂

Les flux mesurés présentent pour chaque date de mesure des coefficients de variation compris entre 28 et 52% pour le traitement lisier et entre 24 et 176% pour le traitement sans lisier.

Les flux de CO₂ sont significativement plus élevés sur la parcelle ayant reçu du lisier de l'épandage jusqu'à six jours après celui-ci. A partir du jour du traitement, les valeurs moyennes de flux de CO₂ pour le traitement lisier sont toujours supérieures au traitement sans lisier. Le flux moyen maximal est observé le jour de l'épandage pour une valeur de 283.79 mg de C-CO₂/heure/m².

On peut donc considérer que l'apport de lisier a eu un effet non négligeable sur les émissions de CO₂ et donc sur la respiration microbienne.

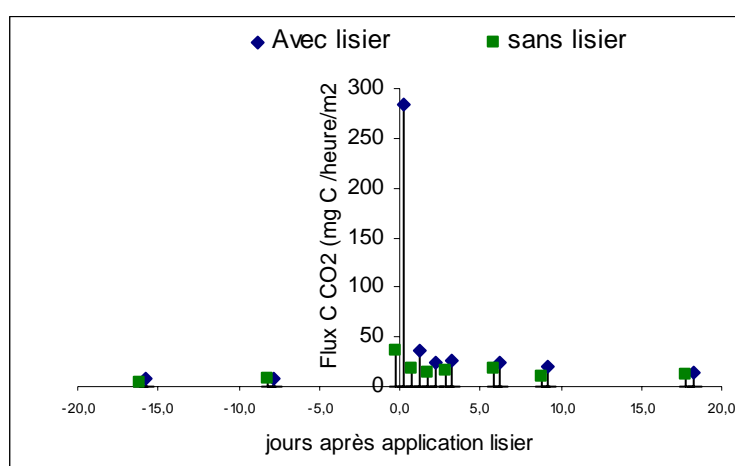


Figure 19 : Flux de C-CO₂ mesurés au cours de l'expérimentation

3.2 Relations entre le taux de remplissage des pores en eau (WFPS) et la dynamique de dénitrification

3.2.1 Flux de C-CO₂

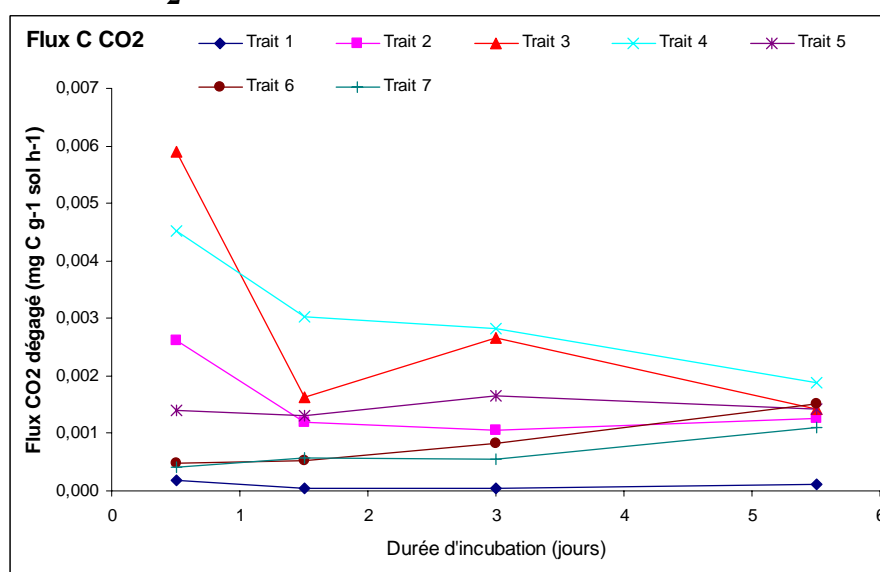


Figure 20 : Flux de C-CO₂ mesurés au cours de l'incubation

Les flux de CO₂ mesurés sont significativement supérieurs aux autres pour les traitements 2, 3 et 4 après 24 heures d'incubation. Il en est de même pour les traitements 3 et 4 jusqu'à 96 heures après incubation.

On peut donc considérer que la respiration microbienne a été limitée soit par une humidité trop faible (T1), soit par un manque d'oxygène pour les traitements 5, 6 et 7.

3.2.2 Flux de N-N₂O

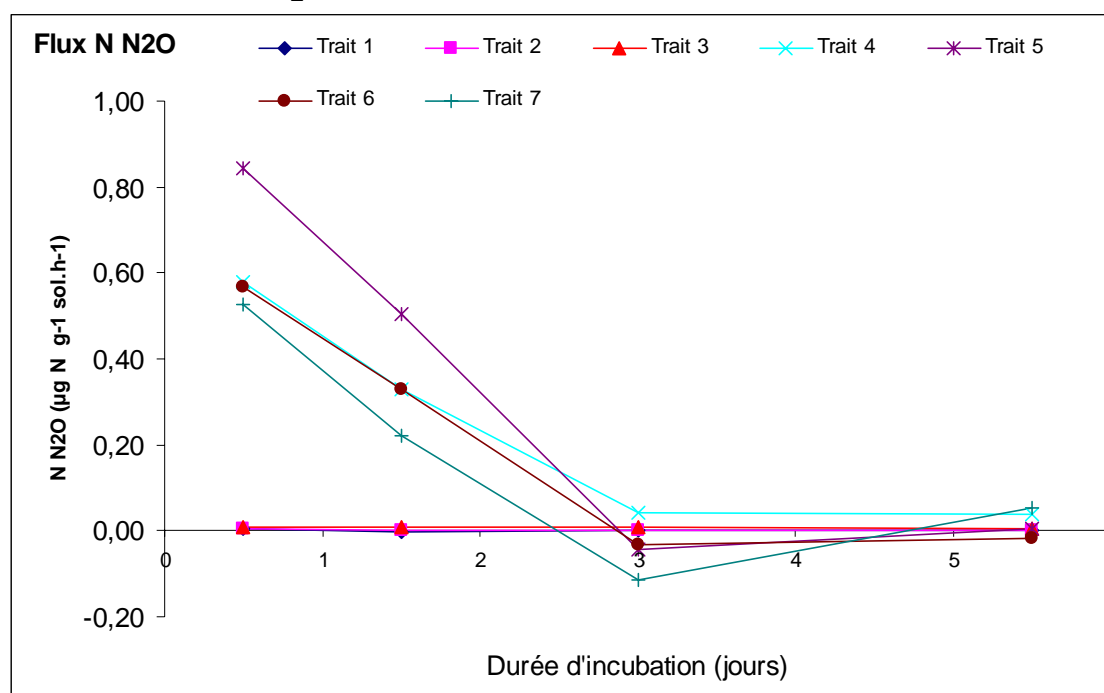


Figure 21 : Flux de N-N₂O mesurés au cours de l'incubation

L'analyse statistique montre que les flux de N₂O sont significativement supérieurs pour les traitements 4, 5, et 6 après 24 heures d'incubation. Ensuite, seul le traitement 5 se distingue des autres. Les flux moyens des traitements 5, 6 et 7 deviennent négatifs après 4 jours d'incubation, seul le traitement 6 le restant par la suite.

La régression du cumul de N-N₂O (annexe 2) dès les mesures effectuées entre 2 et 3 jours d'incubation peut-être imputable à la mise en œuvre de la N₂O réductase très vite après la mise en incubation. Comme elle n'a pas été bloquée par l'ajout de C₂H₂, cela reste une hypothèse qui demande des expériences complémentaires.

3.2.3 Relation entre flux de N₂O et WFPS au laboratoire

Les effets apports d'eau sont très nets sur les valeurs de flux observés après 24 heures d'incubation avec l'apparition d'un seuil entre 60 et 80% de WFPS (46 à 61% d'humidité pondérale). Le traitement 5 affiche la valeur de flux la plus élevée (81.5 mg d'N/m²/h) pour un WFPS de 90% ce qui a également été observé sur un andosol du Costa Rica (HERGOUAL'CH *et al*, 2007). Par contre la valeur de flux à ce taux de WFPS est cent fois supérieure dans notre cas que lors de cette étude (respectivement 0.84 µg d'N/g de sol sec /heure contre 0.009 µg d'N/g de sol sec /heure).

Le flux de CO₂ commence à diminuer dès 60% de WFPS, la respiration microbienne devenant alors plus difficile par manque d'oxygène.

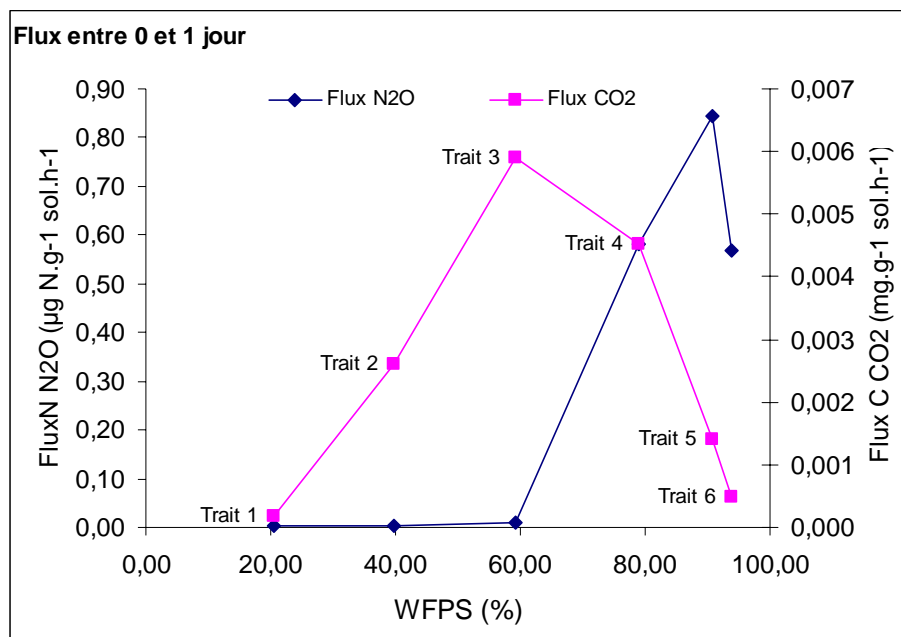


Figure 22 : Relation entre flux moyen de N-N₂O et WFPS entre 0 et 1 jour

3.2.4 Bilan de l'azote minéral selon l'humidité lors de l'incubation

Pour effectuer le bilan de N minéralisé en fin d'expérience, nous avons considéré comme valeur de N dégagé sous forme de N₂O, la valeur la plus élevée de la série temporelle de mesure pour chaque échantillon. L'analyse statistique concernant le N₂O dégagé a été faite à partir de ce jeu de valeurs maximales.

L'analyse statistique conclue que les traitements 1 à 6 sont équivalents pour ce qui concerne NH₄ et que les traitements 1 à 4 le sont pour NO₃ ainsi que 5 et 6 entre eux.

L'évolution de N min entre 0 et 7 jours pour le traitement 7 montre que la minéralisation de la matière organique est active pour ce traitement (évolution de la teneur en N -NH₄⁺). Par contre, on ne retrouve pas sous forme de N₂O la totalité des nitrates disparus pendant les 7 jours d'incubation. Deux hypothèses peuvent être émises : (i) une forte proportion de N₂O provenant de la réduction (18 mg N N₂O /kg contre 95 mg N NO₃/Kg disparus soit seulement 19%) est réduite jusqu'au stade ultime N₂ ; (ii) la détermination de N₂O faite sous estime la réalité.

Le calcul de N-NH₄ ajouté au sol (selon les éléments fournis) est de 339 mg N/kg de sol. Le bilan des diverses formes de N minéral en 7 jours d'incubation indique une augmentation de la nitrification apparente pour T2 et T3 (elle est pratiquement nulle pour T1 avec une chute de N-NH₄ peut-être par volatilisation de N pour ce traitement à la faible humidité) et commence à diminuer pour T4. La somme N-NO₃ + N-N₂O est à peu près constante (80 ppm environ pour T2, T3 et T4). Pour T5 et T6 le bilan est très nettement négatif malgré une augmentation importante de N dénitrifié. Le passage N₂O → N₂ est certainement élevé pour ces traitements. Il est vraisemblable que pour T5 le taux de passage de N₂O vers N₂ est moindre que celui qui a été intuité pour T7, par contre ce taux pourrait s'en rapprocher pour T6 (valeurs N Nitrates restant + N-N₂O *5).

3.3 Mesure des activités dénitrifiantes potentielles et réelles

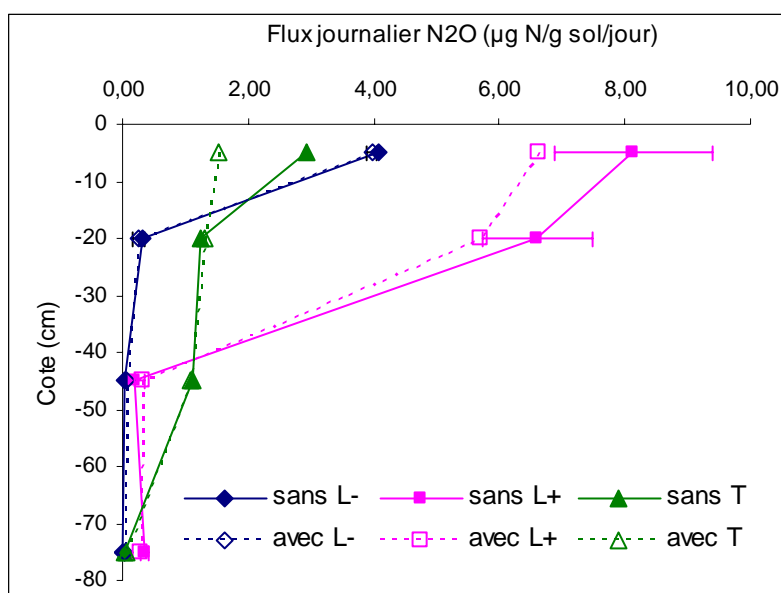


Figure 23 : Flux journalier de N-N₂O par horizons étudiés et pour chaque traitement

On n'observe aucune différence significative entre les flux potentiels et réels. Dans le cas des échantillons notés L+, la variabilité entre les deux mesures est plus forte que pour les autres traitements et, paradoxalement les valeurs potentielles mesurées sont arithmétiquement inférieures aux valeurs réelles, toutefois les écarts types des deux mesures se recoupent. Il ne semble donc pas qu'il y ait eu la possibilité de production de N₂O réductase pendant l'incubation ni préexistence dans le sol de cet enzyme.

L'effet des traitements est net en surface avec une augmentation des activités dénitrifiantes d'autant plus importante que les apports de lisiers sont répétés. Cet effet persiste d'ailleurs dans la couche 10/30 cm uniquement pour le traitement L+. Au-delà de 30 cm, il n'y a pas de différences entre les traitements L- et L+ mais on note une activité pour le traitement T dans cette couche. Les flux de N₂O mesurés entre 30 et 90 cm sont très inférieurs à ceux mesurés entre 0 et 30 cm, ce qui suggère que les pertes d'azote sous cette forme devraient trouver leur origine principalement dans les trente premiers centimètres du sol.

Le flux journalier maximum mesuré au cours de cette expérimentation correspondrait à un flux surfacique de 0.79 g d'N/m²/jour (32.9 mg d'N/m²/h) en ne considérant que l'horizon de surface (0-10cm), ce qui est équivalent aux flux mesurés par METAY (2005) pour les Cerrados brésiliens et 100 fois plus élevés que les résultats obtenus par HERLGOUAC'H (2004) pour des andosols du Costa Rica.

Conclusion

Les résultats obtenus sur l'essai terrain font apparaître des flux d'émission de NH_3 et N_2O relativement modeste, surtout pour ce qui est du N_2O comparativement aux résultats obtenus en laboratoire.

En effet, lors de l'étude sur la relation entre WFPS et activité dénitrifiante, des flux maximaux de $81.5 \text{ mg d'N-N}_2\text{O/m}^2/\text{h}$ ont été mesurés pour un WFPS de 90% et au cours de l'étude sur la détermination la dénitrification potentielle et réelle des flux de $32.9 \text{ mg d'N-N}_2\text{O}$ ont été observés. Or sur l'essai terrain, les flux maximaux enregistrés le jour de l'épandage de lisier ont été $73.27 \text{ } \mu\text{g d'N-N}_2\text{O /m}^2/\text{h}$ soit entre 500 fois et 1000 fois moins que dans les expérimentations en laboratoire.

Les conditions physico-chimiques présentes dans le sol de la parcelle expérimentale au moment de l'épandage n'ont donc pas été favorables à l'émission de N_2O par dénitrification bien que le sol présentait à ce moment un WFPS de 90%, taux favorable à la production de N_2O d'après les résultats obtenus en laboratoire et une quantité de NO_3^- non négligeable (respectivement 2.3 et $5.4 \text{ g d'N-NO}_3/\text{m}^2$ pour les horizons $0-10 \text{ cm}$ et $10-30 \text{ cm}$). Une augmentation du pH du sol au moment de l'épandage pourrait expliquer l'absence de dénitrification dans le sol, les lisiers de porc ayant un pH basique. Une autre explication pourrait être une mise en œuvre rapide de la N_2O réductase, les pertes se faisant alors sous forme de N_2 . Mais cette hypothèse nécessiterait pour être confirmée la mise en place d'une expérimentation couplant l'étude de la dynamique de dénitrification en relation avec le WFPS avec blocage ou non de la N_2O réductase par du C_2H_2 . Les faibles flux observés proviennent donc probablement d'un relargage du N_2O dissout dans la phase liquide du lisier du fait d'une modification de l'équilibre entre N_2O dissout et N_2O gazeux par augmentation de la surface de contact entre les deux phases.

La principale limite de cette étude est que la relation entre dynamique de dénitrification et WFPS n'a pu être menée que sur l'horizon superficiel et ce dans une seule situation (apport de lisier tous les ans depuis 2003), étude qu'il serait nécessaire d'étendre aux autres horizons et situations. De plus les échantillons utilisés en laboratoire ont été remaniés (séchage et tamisage) ce qui pourrait entraîner un comportement différent de celui du sol frais en place. Enfin, le suivi de l'azote minéral sur l'essai terrain montre des valeurs de minéralisation très élevées qui nécessiteraient la mise en place d'une étude spécifique afin de confirmer ou d'infirmer les valeurs observées.

Les expérimentations en laboratoire font apparaître que les émissions d'azote sous forme gazeuse pourraient atteindre des valeurs importantes sur ce sol notamment en cas d'apports de lisier importants et répétés. L'évaluation précise de ces émissions nécessiterait l'examen détaillé de l'état hydrique de l'horizon supérieur du sol ($0-30 \text{ cm}$) à une échelle assez fine pour permettre de rendre compte de la succession des cycles d'humectation et de dessiccation de cet horizon. Il serait donc nécessaire de suivre sur une plus longue période les émissions de N_2O et NH_3 sur l'essai terrain en couplant un suivi régulier selon un calendrier prédéfini à des mesures ponctuelles en cas d'événements susceptibles d'entraîner des modifications rapides des conditions régnant dans le sol (pluies,...) et influant la production de gaz azotés (températures et WFPS élevés). Cela permettrait d'avoir des données sur les variations saisonnières des émissions et de coupler ce suivi à l'utilisation d'un modèle d'émission de N_2O pour validation des paramètres spécifiques du sol des Colimaçons en prenant en compte l'évolution de l'humidité et de la teneur en azote nitrique du sol.

BIBLIOGRAPHIE

- AKIYAMA H., TSURUTA H., 2001. « Effect of organic matter application on nitrous oxide and nitric oxide emissions from Andosol ». *11th Nitrogen Workshop – Book of Abstract*. INRA. 33-34.
- BAKER J., DOYLE G., MACCARTY G., MOSIER A., *et al.*, 2003. « Chamber-based Trace Gas Flux Measurement Protocol ». Trace Gas Protocol Development Committee.
- BELL L.C., RICHARDSON D.J. *et al.*, 1990. « Periplasmic and membrane bound respiratory nitrate reductases in *Thiosphaera pantotropha* ». *FEBS Letters*, 265. 85-87.
- BERTSCH H. F., 1998. « La fertilité des sols et son gestion ». San José, C.R.
- BOUWMAN A.F., BOUMANS L.J.M., BATJES N.H., 2002. « Estimation of global NH₃ volatilization loss from synthetic fertilizers and animal manure applied to arable lands and grasslands ». *Global Biochemical Cycles*, 16 (2). 1024.
- BREMNER J.M., BLACKMER A.M., 1981. « Terrestrial nitrification as a source of atmospheric nitrous oxide ». *Denitrification, nitrification and atmospheric N₂O*. 151-170.
- CADRIN F., 1997. « Effet du travail du sol, des systèmes de culture et du niveau de fertilisation azotée sur les émissions de d'oxyde nitreux ». Thèse de Doctorat., National Library of Canada. 98.
- CHABALIER P.F., VAN DE KERCHOVE V., SAINT-MACARY H., 2006. « Guide de la fertilisation organique à la Réunion ». CIRAD. 302.
- CHABALIER P.F., MORVAN T., PARNAUDEAU V., SAINT-MACARY H., 2003. « Caractérisation des déchets organiques et des milieux récepteurs (sols andiques) sous climat tropical – Cas de l'île de la Réunion ». In *Agriculture et épandage de déchets urbains et agro-industriels*, INRA. *Les dossiers de l'environnement*, 25. 27-33.
- CHAPUIS-LARDY L., WRAGE N., METAY A., *et al.*, 2006. « Soils, a sink for N₂O ? A review ». *Global Change Biology*, 12. 1-17.
- CHAUSSOD R., JUSTE E., LINERES M., BOURGEOIS S., 1997. « Valorisation des déchets urbains et agro-industriels ». *Maîtrise de l'azote dans les agro-systèmes - Les Colloques*, 83. INRA. 255-270.
- CICERONE R.J., 1987. « Changes in stratospheric ozone ». *Science*, 237. 35-42.
- CITEPA, 2006. « Emissions dans l'air en France – métropole : Substances impliquées dans le phénomène d'accroissement de l'effet de serre ». 10-12.
- CLAY D.E., MAIZER G.L., ANDERSON J.L., 1990. « Ammonia volatilization urea as influence by soil temperature, soil water content and nitrification and hydrolysis inhibitors ». *Soil Science Society of America Journal*, 54. 263-266.
- CRUTZEN P.J., 1979. « The Role of NO and NO₂ in the chemistry of the troposphere and stratosphere ». *Annual Review of Earth and Planetary Science*, 7. 443-472.
- DAMBREVILLE C., HENAULT C., PHILIPPOT L., *et al.*, 2004. « Effets comparés des apports de lisier de porc et d'une fertilisation minérale sur le fonctionnement de la dénitrification dans un sol ». *Journées de la Recherche Porcine*, 36. 97-104.
- DAVET P., 1996. « Vie microbienne du sol et production végétale ». Edition INRA, Collection Mieux comprendre. 157-160.
- DDASS Réunion, 2004. « Qualité des eaux de consommation distribuées à la Réunion – situation 2003 ». 33.
- DENDOOVEN L., ANDERSON J.M., 1994. « Dynamics of reduction enzymes involved in the denitrification process in pasture soil ». *Soil Biology and Biochemistry*, 26 (11). 1501-1506.
- DOELSCH E., 2006. « Eléments traces métalliques : Evaluation de la biodisponibilité des ETM pour les cultures maraîchères ». Rapport scientifique, CIRAD - Chambre d'Agriculture de la Réunion. 42.

DRURY C.F., YANG X.M., REYNOLDS W.D., TAN C.S., 2004. « Influence of crop rotation and aggregate size on carbon dioxide production and denitrification ». *Soil and Tillage Research*, 79. 87-100.

ELLIS J.R., MIELKE L.N., SCHUMAN G.E., 1975. « The nitrogen status beneath beef cattle feedlots in eastern Nebraska ». *Soil Science Society of America Proceedings*, 39. 107-111.

FAO, 1998. « World Reference Base for Soil Resources ». *World Soil Resource Report*, 84. FAO, ISRIC et AISS.

FAO, 2003. « Estimations des émissions gazeuses de NH₃, NO et N₂O par les terres agricoles à l'échelle mondiale ». FAO, IFA. 121.

FEDER F., FINDELING A., 2007. « Retention and leaching of nitrate and chloride in an andic soil after pig manure amendment ». *European Journal of Soil Science*, 58. 393-404.

FERGUSON R.B., KISSEL D.E., KOELLIKER J.K., BASEL W., 1984. « Ammonia volatilization from surface-applied urea : effect of hydrogen ion buffering capacity ». *Soil Science Society of America Journal*, 48. 578-582.

FIRESTONE M.K., TIEDJE J.M., 1979. « Temporal change in nitrous oxide and dinitrogen from denitrification following onset of anaerobiosis ». *Applied and Environmental Microbiology*, 38. 673-679.

FOWLER D., 1989. « Micrometeorological techniques for the measurement of trace gas exchange ». In ANDREA M.O. et SCHIMEL D.S., *Exchange of trace gasees btween terrestrial ecosystems and the atmosphere*, 189-193.

GARRIDO F., HENAULT C., GAILLARD H., PEREZ S., GERMON J.C., 2002. « N₂O and NO emissions by agricultural soils with low hydric potentials ». *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 559-575.

GENERMON S., MORVAN T., PAILLAT J.-M., *et al*, 2003. « Volatilisation d'ammoniac après épandage de lisier en conditions tropicales – cas des prairies d'altitude et de la canne à sucre à l'île de la Réunion ». In F. GUERRIN, J.-M. PAILLAT (éditeurs scientifiques), 2003. *Modélisation des flux de biomasse et des transferts de fertilité – cas de la gestion des effluents d'élevage à l'île de la Réunion*. Restitution des travaux de l'Atp 99/60. Actes du séminaire, 19-20 juin 2002. CIRAD/INRA.

GERMONT J.-C., TAUREAU J.-C., 1991. « Simplification du travail du sol et transformation de l'azote : conséquence sur le lessivage des nitrates ». *Perspectives Agricoles*, 161. 40-51.

GERMONT J.-C., COUTON Y., 1999. « La dénitrification dans les sols – Régulation de son fonctionnement et application à la dépollution ». INRA-CMSE. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*, 38.

GIEC, 2001. « Bilan 2001 des changements climatiques : les bases scientifiques ». Rapport, IPCC. 40-44.

HÉNAULT C., GERMONT J.-C., 1995. « Quantification de la dénitrification et des émissions de protoxyde d'azote (N₂O) par les sols ». INRA, *Agronomie*, 15. 321-355.

HÉNAULT C., DEVIS X., PAGE S., *et al*, 1998. « Nitrous oxyde emission under different soil and land management conditions ». *Biology and Fertility of Soils*, 26. 199-207.

HÉNAULT C., GERMONT J.-C., 2000. « NEMIS, a predictive model of denitrification on the field scale ». *European Journal of Soil Science*, 51 (2). 257-270.

HÉNAULT C., CHÈNEBY D., HEURLIER K., *et al*, 2001. « Laboratory kinetics of soil denitrification are useful to discriminate soils with potentially high levels of N₂O emission on the field scale ». INRA, *Agronomie*, 21. 713-723.

HÉNAULT C., BIZOUARD F., LAVILLE P., GABRIELLE B., *et al*, 2005. « Predicting in situ soil N₂O emission using NOE algorithm and soil database ». *Global Change Biology*, 11 (1). 115-127.

- HERGOUALC'H K., SKIBA U., HARMAND J.-M., OLIVER R., 2007. « Processes responsible for nitrous oxide emission from a Costa Rica Andosol under a coffee agroforestry plantation ». *Biology and Fertility of Soils*, à paraître.
- KAISER E.-A., J.C. MUNCH, O. HEINEMEYER, 1996. « Importance of soil cover box area for the determination of N₂O emissions from arable soils ». *Plant and Soil*, 181. 185-192.
- KHALIL K., 2003. « Emissions de N₂O par nitrification et dénitrification à l'échelle de la motte de sol : effet de la structure, de l'aération et des activités microbiennes ». Thèse de Doctorat, Université Paris 7. 224.
- KLEMEDTSSON L., SVENSSON B. H., *et al*, 1988. « Relationships between soil moisture content and nitrous oxide production during nitrification and denitrification ». *Biology and Fertility of Soils*, 6. 106-111.
- KNOWLES R., 1982. « Denitrification ». *Microbiological Reviews* 46 (1). 43-70.
- LAFOLIE F., RENAULT P., HENAULT C., SEVENIER G., 2001. « Nitrous oxide emission: a comparison of field measurements and model predictions ». *11th Nitrogen Workshop – Book of Abstract*. INRA. 21-22.
- LENSI R., GOURBIERE F., JOSSERAND A. 1985. « Measurement of small amounts of nitrate in an acid soil by N₂O production ». *Soil Biology and Biochemistry*. 17. 733-734.
- LINN, D., J. W. DORAN (1984). « Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and non tilled soils. ». *Soil Science Society of America*. 48. 1267-1272.
- MATTILA P.K., 1998. « Ammonia volatilization from cattle slurry applied to grass land as affected by slurry treatment and application technique - first year results ». *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 51. 47-50.
- McTAGGART I.P., TSURUTA H., 2003. « The influence of controlled release fertilisers and the form of applied fertiliser nitrogen on nitrous oxide emissions from an andosol ». *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 67. 47-54.
- MERINO P., ESTAVILLO J.M., BESGA G., PINTO M., GONZALES-MURUA C., 2001. « Nitrification and denitrification derived N₂O production from a grassland soil under application of DCD and Actilith F2 ». *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 60. 9-14.
- METAY A., 2005. « Séquestration de carbone et flux de gaz à effet de serre : comparaison entre semis direct et système conventionnel dans les Cerrados brésiliens ». Thèse de Doctorat, INAPG-LMOST-CIRAD-IRD. 233.
- MILLER R.W., R.L. DONAHUE, 1995. « Soils in our environment ». Prentice HALL, 7th Edition. 65.
- MONTAGNINI F., B. HAINES, *et al*, 1989. « Factors controlling nitrification in soils of early successional and oak/hickory forests in the Southern Appalachians ». *Forest Ecology and Management*, 26. 77-94.
- MORVAN T., LEHOUERON B., MARTINEZ J., HACALA S., 1997. « La valorisation des effluents d'élevage ». *Maîtrise de l'azote dans les agrosystèmes - Les Colloques*, 83. Edition INRA, Paris. 233-254.
- MORVAN T., CHABALIER P.F., SAINT-MACARY H., PAILLAT J.M., 2003. « Biotransformations résultant de l'apport de produits organiques sur des sols de la Réunion : acquisition de références ». In F. GUERRIN, J.-M. PAILLAT (éditeurs scientifiques), 2002. *Modélisation des flux de biomasse et des transferts de fertilité – cas de la gestion des effluents d'élevage à l'île de la Réunion*. Restitution des travaux de l'Atp 99/60. Actes du séminaire, 19-20 juin 2002. CIRAD/INRA.
- MULLER C., SHERLOCK R.R., WILLIAMS P.H., 1997. « Mechanistic model for nitrous oxide emission via nitrification and denitrification ». *Biology and Fertility of Soils*, 24 (2). 231-238.

OLIVIER R., 2005. « Etude d'une toposéquence dans l'île de la Réunion ». Rapport de stage. INH – CIRAD. 31.

PARTON W.J., MOSIER A.R. *et al*, 1996. « Generalized model for N₂ and N₂O production from nitrification and denitrification ». *Global Biogeochemical Cycles*, 10. 401-412.

PAYET N., 2005. « Impact des apports de lisier sur un sol cultivé de la Réunion : étude expérimentale et modélisation des flux d'eau et de nitrate dans la zone non saturée ». Thèse, Laboratoire des Sciences de la Terre de l'Université de la Réunion – CIRAD. 248.

PELMONT J., 1993. « Bactéries et Environnement : Adaptations physiologiques ». EDP Sciences. 900.

PIERZINSKY G.M., SIMS J.T., VANCE G.F., 2000. « Soils and environmental quality ». CRS Press, 2nd Edition. 101.

PORTEJOIE S., MARTINEZ J., LANDMANN G., 2002. « L'ammoniac d'origine agricole : impact sur la santé humaine et animale et sur le milieu naturel ». INRA, *Production Animale*, 15 (3). 151-160.

RAUNET M., 1991. « Le milieu physique et les sols de l'île de la Réunion - conséquence pour la mise en valeur agricole ». CIRAD. 515.

RENAULT P., 1999. « Les modèles opérationnels d'émission de N₂O par les sols aux échelles régionales ». *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France*, 85. 193-210.

ROBERTSON G.P., TIEDJE J.M., 1987. « Nitrous oxide sources in aerobic soils : nitrification, denitrification and other biological processes ». *Soil Biology and Biochemistry*, 19 (2). 187-193.

SHOUN H., KIM D., HCHIYAMA H. *et al*, 1992. « Denitrification by fungi ». *FEMS Microbiology Letters*, 94. 277-282.

SIGUNDA D.O., 2003. « Potential denitrification : concept and conditions of its measurement ». *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 34 (17&18). 2405-2418.

SKIBA U., SMITH K. A., 2000. « The control of nitrous oxide emissions from agricultural and natural soils ». *Chemosphere : Global Change Science*, 2 (3-4). 379-386.

TIEDJE J.M., 1988. « Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium ». In *Biology of Anaerobic Microorganisms*, A.J.B. ZENDER. 179-244.

THOMPSON R.B., RYDEN J.C., LOCKYER D.R., 1987. *Journal of Soil Science*, 38. 689-700.

USEPA, 2006. « Global Mitigation of Non-CO₂ Greenhouse Gases ». U.S Environmental Protection Agency. 363.

VAN WAMBEKE A., 1995. « Sols des tropiques – Propriétés et appréciations ». CTA et Huy Trop ASBL. 142-206.

WANG Z.-H., LIU X.-J, JU X.-T. *et al*, 2004. « Ammonia volatilisation loss from surface broadcast urea : comparison of vented and closed chamber methods and loss in winter wheat – summer maize rotation in north China plain ». *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 35 (19-20). 2917-2939.

WRAGE N., VELTHOF G.L., VAN BEUSICHEM M.L., OENEMA O., 2001. « Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide ». *Soil Biology and Biochemistry*, 33. 1723-1732.

WEBSTER E.A., HOPKINS D.W., 1996. « Contributions from different microbial processes to N₂O emission from under different moisture regimes ». *Biology and Fertility of Soils*, 22. 331-335.

WELL R., MYROLD D.D., 2002. « A proposed method for measuring subsoil denitrification in situ ». *Soil Science Society of America Journal*, 66. 507-518.

Annexe 1

MESURE DES ACTIVITES DENITRIFIANTES POTENTIELLES ET REELLES EN CONDITIONS DE SUBSTRAT NON LIMITANTES

PRINCIPE :

L'échantillon à tester est placé dans des conditions optimales pour l'établissement du processus de dénitrification :

- anaérobiose totale par substitution de l'atmosphère du flacon par de l'hélium ;
- humidité maximale par ajout d'une quantité équivalente (poids/volume) d'une solution aqueuse dans le flacon d'incubation.;
- conditions de substrat et d'énergie non limitantes par ajout d'une solution mixte de KNO₃ ; Glucose et acide glutamique.

L'activité dénitrifiante est mesurée par la production de N₂O à partir du substrat NO₃K dans des conditions de non multiplication des bactéries (1 heure et 4 heures après l'établissement des conditions optimales du milieu, à la température du laboratoire (24°C) ou à une température de référence (28°C) utilisée pour toutes nos expériences d'incubation et en présence d'une pression partielle de C₂H₂ de 10 KPa pour l'activité potentielle (blocage de la N₂O réductase) et sans ajout de C₂H₂ dans le cas de l'activité réelle.

REACTIFS ET MATERIELS :

Dosages par CPG : -a) *détermination de N₂O* → CPG Varian 3800 Colonne remplie 3m Porapak Q- Détecteur ECD – température four : 60°C ; température injecteur : 120°C ; Débit gaz vecteur (Argon 90 – méthane 10) : 35 ml mn⁻¹ (41.5 psi); Durée cycle : 4 mn – Détecteur ECD : 300°C pot contact : 500 mV

-b) *détermination optionnelle du CO₂* → CPG Agilent M200 ; colonne capillaire 8m Poraplot Q ; Détecteur micro catharomètre ; température 40°C ; gaz vecteur He₂ ; temps de rinçage 5 secondes ; connection directe à l'injecteur ; sensibilité moyenne ; durée du cycle : 1 mn

Matériel spécifique : Inerteur pour les flacons sérum d'incubation (ILS Instruments – 24 rue de St Cyr -69009 Lyon)

Petit matériel nécessaire :

Seringue pour CPG à robinet Hamilton 1750SL et aiguilles réf (réf 20799 – Supelco/Hamilton)

Flacons sérum cap. nominale 125 ml (réelle 149 ml) avec capsule en aluminium et septim en caoutchouc (à changer régulièrement en fonction des piqûres effectuées) (Fournisseur : verreries talançonnaises -Z.I. Rue des Genets - 01600 REYRIEUX).

Réactifs :

Solution de « dopage » : solution mixte apportant 1mg de C sous forme de glucose ; 1 mg de C sous forme d'acide glutamique et 1 mg de N nitrique par gramme de terre à tester. Soit pour 200 ml de solution (quantité nécessaire pour 24 flacons) : 500 mg de glucose + 490 mg d'acide glutamique + 288.6 mg de NO₃K. La dissolution de l'acide glutamique étant un peu difficile, placer la fiole sous un courant d'eau tiède pendant quelques minutes pour aider à la dissolution puis laisser refroidir avant d'ajuster à volume avec de l'eau distillée. Seringues de 5 ml ; 20 ml (avec si possible un robinet d'arrêt) ;

Hélium (pour l'inertage des flacons) ; C₂H₂ sans acétone (utilisé pour AAS) pour le blocage de la N₂O réductase.

MODE OPERATOIRE :

Peser dans les flacons sérum une quantité de terre (terre fine à 2mm ou échantillon brut provenant de prélèvements aux champs une quantité connue voisine de l'équivalent de 5g de terre sèche (déterminer

en parallèle l'humidité pondérale à 105°C des échantillons). Placer les échantillons sur le banc d'inertage (Figure 2) et réaliser cinq cycles successifs de cinq minutes de vide-remplissage par de l'hélium. Terminer sur un cycle de remplissage et une légère surpression (50 mbars environ) dans les flacons (isoler chaque flacon avant de déconnecter l'aiguille du septum et n'utiliser que des aiguilles de type intraveineuse (G22) pour piquer à travers le septum).

Le banc d'inertage comportant 24 postes, tenir compte de cette contrainte dans la mise en place des plans d'expérience.

Enlever 18 ml environ d'atmosphère des flacons destinés à la mesure de l'activité potentielle et les remplacer par 15 ml de C₂H₂ qualité « U » sans acétone (figure 3) (blocage de la N₂O réductase).

Injecter à la seringue 5 ml de solution de dopage dans chaque flacon et homogénéiser la boue ainsi obtenue en tournant et en évitant si possible de faire remonter la boue sur les parois du flacon. Déclencher le chronomètre dès l'injection. Traiter un échantillon toutes les cinq minutes (délai nécessaire pour les analyses par CPG). Placer, si possible les flacons à l'étuve à 28°C ou noter la température du laboratoire pour indiquer la température d'expérience si on ne dispose pas d'étuve.

Aux temps d'incubation 1 heure et 4 heures exactement, déterminer la teneur en N₂O et en CO₂ de l'atmosphère des flacons. En fin d'expérience, si on dispose d'un tensimètre, déterminer le différentiel de pression atmosphérique sur une dizaine de flacons pour tenir compte de la pression réelle dans les flacons.

Dosages par CPG :

Voir les techniques spécifiques pour ces appareils.

Prélèvement pour dosage de N₂O : 500 µl de gaz avec un rinçage de la seringue et injection de 250 µl de gaz pour le dosage.

Prélèvement pour le dosage de CO₂ : 5 ml de gaz dans une seringue (sans rinçage) et connection directe de la seringue à l'ajutage d'entrée du CPG, méthode analytique spécifique.

Étalons : mixtes CO₂/N₂O : 245/1.26 ; 964/10.2 ; 10500/100.3 vpm prélevés sur les bouteilles étalons et dosés dans les mêmes conditions d'injection que les échantillons.

CALCULS :

Volume de base du flacon avec sol et solution de dopage : 142.5 ml (V)

Nvpm : teneur en vpm de l'atmosphère en N₂O

Cvpm : teneur en vpm de l'atmosphère en CO₂

Psol : équivalent en poids sec du sol contenu dans le flacon.

Pression atmosphérique au moment de l'expérience : P mbars

Différentiel de pression dans les flacons d'incubation : pdif

Température d'incubation : T°C

Equivalent en millimoles de GP du contenu gazeux du flacon : $\text{mmoles} = V * ((P + \text{pdif}) / 1013.25) * (273.15 / (273.15 + T))$

mg de NN₂O correspondant à la teneur Nvpm : $\text{NN}_2\text{O} = 28 * (\text{Nvpm} / 10^6) * \text{mmoles}$

Activité mesurée : mg N N₂O produit g⁻¹ sol jour⁻¹ = $(\text{NN}_2\text{O} \text{ à 4 heures} - \text{NN}_2\text{O} \text{ à 1 heure}) / (\text{delta temps en jours}) * \text{Psol}$

Equivalent en millimoles de GP du contenu gazeux du flacon : $\text{mmoles} = V * ((P + \text{pdif}) / 1013.25) * (273.15 / (273.15 + T))$

mg de CCO₂ correspondant à la teneur Cvpm : $\text{CCO}_2 = 12 * (\text{Cvpm} / 10^6) * \text{mmoles}$

Activité mesurée : mg C CO₂ produit g⁻¹ sol jour⁻¹ = $(\text{CCO}_2 \text{ à 4 heures} - \text{CCO}_2 \text{ à 1 heure}) / (\text{delta temps en jours}) * \text{Psol}$

Annexe 2

Cumul de C-CO₂ et N-N₂O au cours de l'expérimentation sur la relation entre WFPS et dynamique de dénitrification

